

50376
1978
93

50376
1978
93

N° d'ordre : 98

MEMOIRE

présenté pour l'obtention du titre de Docteur ès Sciences
Naturelles de l'Université des Sciences et Techniques de Lille 1

par

Ghislain Deknudt

ETUDE DES EFFETS CYTOGENETIQUES DU ZINC, DU PLOMB ET DU CADMIUM
CHEZ LES MAMMIFERES



Présenté le 27 juin 1978 devant la commission d'examen

MM. E. Vivier
M. Deminatti
A. Capuron
J. Frederic
A. Léonard

Président
Rapporteur
Examineur
Examineur
Examineur

AVANT-PROPOS

Je tiens à remercier Monsieur le Professeur M. DEMINATTI d'avoir bien voulu accepter de diriger ce mémoire. C'est sous son impulsion que ce travail, qui à l'origine ne se voulait qu'une étude purement épidémiologique sur les travailleurs des usines de métaux lourds, a été complété par des recherches expérimentales réalisées *in vivo* sur des mammifères tels que le singe et la souris et *in vitro* sur des lymphocytes humains.

C'est au Laboratoire de Génétique des Mammifères de Mol que nous avons effectué nos observations. Monsieur le Professeur A. LEONARD, qui dirige ce laboratoire, a suivi pas à pas nos travaux, nous prodiguant conseils et encouragements. Monsieur le Professeur J.R. MAISIN et la Direction du Centre d'Etude de l'Energie Nucléaire de Mol nous ont fourni les moyens matériels qu'exigeaient ces études, qui ont également été financées en partie par un contrat de recherches passé avec la Commission des Communautés Européennes. Monsieur le Professeur J. FREDERIC de l'Université de Liège et Monsieur le Professeur C. MOURIQUAND de l'Université de Grenoble nous ont encouragé à entreprendre cette étude. Une partie des recherches que résume ce mémoire a été réalisée en collaboration avec Messieurs les Docteurs Y. MANUEL et A. COLLE. Monsieur le Professeur G.B. GERBER de l'Université de

Hombourg a effectué l'analyse statistique de nos résultats, tandis que Monsieur le Professeur R. LAUWEREYS de l'Université Catholique de Louvain nous permettait d'utiliser les résultats de ses analyses sur le taux en plomb et en cadmium qu'il avait réalisées sur les travailleurs que nous avons étudiés. Avec mes collègues Messieurs P. JACQUET et G. DECAT nous avons discuté longuement les différentes étapes de cette étude, tandis que Monsieur L. MEULEMANS nous a apporté une aide technique précieuse. Les photographies et les graphiques qui illustrent ce mémoire ont été réalisés par Messieurs U. VAN GORP et A. GEUSENS. La dactylographie et l'impression ont été assurées par les services de Madame L. STEYLEMANS et Monsieur H. FREDERIX.

La recherche actuelle est devenue un travail d'équipe. Sans l'aide de toutes les personnes citées, la réalisation de ce mémoire n'aurait certainement pas été possible.

Que les uns et les autres trouvent donc ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Doyens Honoraires de l'Ancienne Faculté des Sciences

MM. R. DEFRETIN, H. LEFEBVRE, M. PARREAU.

Professeurs Honoraires des Anciennes Facultés de Droit et Sciences Economiques, des Sciences et des Lettres

M. ARNOULT, Mme BEAUJEU, MM. BROCHARD, CHAPPELON, CHAUDRON, CORDONNIER,
CORSIN, DECUYPER, DEHEUVELS, DEHORS, DION, FAUVEL, FLEURY, P. GERMAIN,
GLACET, HEIM DE BALSAC, HOCQUETTE, KAMPE DE FERIET, KOUGANOFF, LAMOTTE,
LASSERRE, LELONG, Mme LELONG, MM. LHOMME, LIEBAERT, MARTINOT-LAGARDE,
MAZET, MICHEL, PEREZ, ROIG, ROSEAU, ROUELLE, SAVARO, WATERLOT, WIEMAN,
ZAMANSKI.

Présidents Honoraires de l'Université des Sciences et Techniques de LILLE

MM. R. DEFRETIN, M. PARREAU.

Président de l'Université des Sciences et Techniques de LILLE

M. M. MIGEON.

Professeurs Titulaires

M. BACCHUS, Pierre	Astronomie
M. BEAUFILS, Jean-Pierre	Chimie Physique
M. BECART, Maurice	Physique Atomique et Moléculaire
M. BILLARD, Jean	Physique du Solide
M. BIAYS, Pierre	Géographie
M. BONNEMAN, Pierre	Chimie Appliquée
M. BONNOT, Ernest	Biologie Végétale
M. BONTE, Antoine	Géologie Appliquée
M. BOUGHON, Pierre	Algèbre
M. BOURIQUET, Robert	Biologie Végétale
M. CELET, Paul	Géologie Générale
M. COEURE, Gérard	Analyse
M. CONSTANT, Eugène	Electronique
M. DEBOURSE, Jean-Pierre	Gestion des Entreprises
M. DELATTRE, Charles	Géologie Générale
M. DELHAYE, Michel	Chimie Physique
M. DERCOURT, Jean	Géologie Générale
M. DURCHON, Maurice	Biologie Expérimentale
M. FAURE, Robert	Mécanique

M. FOURET, René	Physique du Solide
M. GABILLARD, Robert	Electronique
M. GONTIER, Gérard	Mécanique
M. GRANELLE, Jean-Jacques	Sciences Economiques
M. GRUSON, Laurent	Algèbre
M. GUILLAUME, Jean	Microbiologie
M. HEUBEL, Joseph	Chimie Minérale
M. LABLACHE-COMBIER, Alain	Chimie Organique
M. LACOSTE, Louis	Biologie Végétale
M. LANSRAUX, Guy	Physique Atomique et Moléculaire
M. LAVEINE, Jean-Pierre	Paléontologie
M. LEBRUN, André	Electronique
M. LEHMANN, Daniel	Géométrie
Mme LENOBLE, Jacqueline	Physique Atomique et Moléculaire
M. LINDER, Robert	Biologie et Physiologie Végétales
M. LOMBARD, Jacques	Sociologie
M. LOUCHEUX, Claude	Chimie Physique
M. LUCQUIN, Michel	Chimie Physique
M. MAILLET, Pierre	Sciences Economiques
M. MONTARIOL, Frédéric	Chimie Appliquée
M. MONTREUIL, Jean	Biochimie
M. PARREAU, Michel	Analyse
M. POUZET, Pierre	Analyse numérique
M. PROUVOST, Jean	Minéralogie
M. SALMER, Georges	Electronique
M. SCHILTZ, René	Physique Atomique et Moléculaire
Mme SCHWARTZ, Marie-Hélène	Géométrie
M. SEGUIER, Guy	Electrotechnique
M. TILLIEU, Jacques	Physique Théorique
M. TRIDOT, Gabriel	Chimie Appliquée
M. VIDAL, Pierre	Automatique
M. VIVIER, Emile	Biologie Cellulaire
M. WERTHEIMER, Raymond	Physique Atomique et Moléculaire
M. ZEYTOUNIAN, Radyadour	Mécanique

Professeurs sans Chaire

M. BELLET, Jean	Physique Atomique et Moléculaire
M. BKOUCHE, Rudolphe	Algèbre
M. BODARD, Marcel	Biologie Végétale
M. BOILLET, Pierre	Physique Atomique et Moléculaire
M. BOILLY, Bénoni	Biologie Animale
M. BRIDOUX, Michel	Chimie Physique
M. CAPURON, Alfred	Biologie Animale
M. CORTOIS, Jean	Physique Nucléaire et Corpusculaire
Mme DACHARRY, Monique	Géographie
M. DEPREZ, Gilbert	Physique Théorique
M. DEVRAINNE, Pierre	Chimie Minérale
Mme EVRARD, Micheline	Chimie Appliquée
M. GOSSELIN, Gabriel	Sociologie
M. GOUDMAND, Pierre	Chimie Physique
M. GUILBAULT, Pierre	Physiologie Animale

M. HERMAN, Maurice	Physique Spatiale
Mme LEHMANN, Josiane	Analyse
M. LENTACKER, Firmin	Géographie
M. LEROY, Jean-Marie	Chimie Appliquée
M. LOUAGE, Francis	Electronique
M. MAIZIERES, Christian	Automatique
Mlle MARQUET, Simone	Probabilités
M. MIGEON, Michel	Chimie Physique
M. MONTEL, Marc	Physique du Solide
M. MONTUELLE, Bernard	Biologie Appliquée
M. NICOLE, Jacques	Chimie Appliquée
M. PAQUET, Jacques	Géologie Générale
M. RACZY, Ladislas	Electronique
M. ROUSSEAU, Jean-Paul	Physiologie Animale
M. SLIWA, Henri	Chimie Organique
M. WATERLOT, Michel	Géologie Générale

MAITRES DE CONFERENCES (Et Chargés d'Enseignement)

M. ADAM, Michel	Sciences Economiques
M. ANTOINE, Philippe	Analyse
M. BART, André	Biologie Animale
Mme BATTIAU, Yvonne	Géographie
M. BEGUIN, Paul	Mécanique
M. BONNELLE, Jean-Pierre	Chimie
M. BOSCO, Denis	Probabilités
M. BREZINSKI, Claude	Analyse Numérique
M. BRUYELLE, Pierre	Géographie
M. CARREZ, Christian	Informatique
M. COQUERY, Jean-Marie	Psycho-Physiologie
M. CORDONNIER, Vincent	Informatique
M. COUTURIER, Daniel	Chimie Organique
M. CRAMPON, Norbert	Géologie
M. CROSNIER, Yves	Electronique
M. DEBRABANT, Pierre	Géologie Appliquée
M. DEGAUQUE, Pierre	Electronique
M. DELORME, Pierre	Physiologie Animale
M. DE PARIS, Jean-Claude	Mathématiques
M. DHAINAUT, André	Biologie Animale
M. DELAUNAY, Jean-Claude	Sciences Economiques
M. DERIEUX, Jean-Claude	Microbiologie
M. DOUKHAN, Jean-Claude	Physique du Solide
M. DUBOIS, Henri	Physique
M. DUEE, Gérard	Géologie
M. DYMENT, Arthur	Mécanique
M. ESCAIG, Bertrand	Physique du Solide
M. FAKIR, Sabah	Algèbre
M. FLAMME, Jean-Marie	Technologie de Construction
M. FOCT, Jacques	Génie Mécanique
M. FONTAINE, Hubert	Physique
M. FONTAINE, Jacques	Electronique

M. FOURNET, Bernard	Biochimie
M. GAMBLIN, André	Géographie
M. GERVAIS, Michel	Gestion des Entreprises
M. GOBLOT, Rémi	Algèbre
M. HECTOR, Joseph	Géométrie
M. JACOB, Gérard	Informatique
M. JOURNEL, Gérard	Physique Atomique et Moléculaire
M. KREMBEL, Jean	Biochimie
M. LAURENT, François	Automatique
M ^{lle} LEGRAND, Denise	Algèbre
M ^{lle} LEGRAND, Solange	Algèbre
M. LEROY, Yves	Electronique
M. LHENAFF, René	Géographie
M. LOCQUENEUX, Robert	Physique théorique
M. MACKE, Bruno	Physique
M. MAHIEU, Jean-Marie	Physique Atomique et Moléculaire
M. MESSELYN, Jean	Physique Atomique et Moléculaire
M. MIGNOT, Fulbert	Analyse Numérique
M. N'GUYEN VAN CHI, Régine	Géographie
M. NOTELET, Francis	Electrotechnique
M. NUSSEMBAUM, Maurice	Sciences Economiques
M. PARSY, Fernand	Mécanique
M. PAUPARDIN, Colette	Biologie Physiologie Végétales
M. PECQUE, Marcel	Chimie Physique
M. PERROT, Pierre	Chimie Appliquée
M. PERTUZON, Emile	Physiologie Animale
M. PETIT, Francis	Chimie Organique
M. PONSOLLE, Louis	Chimie Physique
M. POVY, Lucien	Automatique
M. RICHARD, Alain	Biologie
M. ROGALSKI, Marc	Analyse
M. ROY, Jean-Claude	Psycho-Physiologie
M. SIMON, Michel	Sociologie
M. SOMME, Jean	Géographie
M ^{lle} SPIK, Geneviève	Biochimie
M. STANKIEWICZ, François	Sciences Economiques
M. STERBOUL, François	Informatique
M. TAILLEZ, Roger	Biologie
M. THERY, Pierre	Electronique
M. TOP, Gérard	Sciences Economiques
M. TOULOTTE, Jean-Marc	Automatique
M. TREANTON, Jean-René	Sociologie
M. VANDORPE, Bernard	Chimie Minérale
M. VILLETTE, Michel	Mécanique
M. WALLART, Francis	Chimie
M. WERNER, Georges	Informatique
M ^{me} ZIN-JUSTIN, Nicole	Algèbre

TABLE DES MATIERES

	page
INTRODUCTION	1
Chapitre I : LE ZINC, LE PLOMB ET LE CADMIUM DANS L'ENVIRONNEMENT	4
1. LE ZINC	4
1.1. Propriétés chimiques et physiques du zinc et de ses composés	4
1.2. Origines et sources du zinc dans l'environnement	4
1.2.1. <i>Origines naturelles</i>	4
1.2.2. <i>Sources industrielles</i>	5
1.3. Mécanismes de dispersion du zinc	5
1.4. Contamination des organismes terrestres par le zinc	9
1.5. Transfert du zinc vers l'homme	10
1.6. Métabolisme du zinc	11
1.7. Toxicité du zinc	13
1.7.1. <i>Intoxication aiguë</i>	13
1.7.2. <i>Intoxication chronique</i>	14
1.8. Effets tératogéniques du zinc	14

2. LE PLOMB	15
2.1. Propriétés chimiques et physiques du plomb et de ses composés	15
2.2. Origines et sources du plomb dans l'environnement	15
2.2.1. <i>Origines naturelles</i>	15
2.2.2. <i>Sources industrielles</i>	16
2.3. Mécanismes de dispersion du plomb	18
2.4. Contamination des organismes terrestres	23
2.5. Transfert du plomb vers l'homme	26
2.6. Métabolisme du plomb	33
2.7. Toxicité du plomb	36
2.7.1. <i>Intoxication aiguë</i>	37
2.7.2. <i>Intoxication chronique</i>	37
2.7.2.1. Intoxication par des composés inorganiques	37
2.7.2.2. Intoxication par des composés organiques	38
2.8. Effets tératogéniques du plomb	38
3. LE CADMIUM	40
3.1. Propriétés chimiques et physiques du cadmium et de ses composés	40
3.2. Origines et sources du cadmium dans l'environnement	40
3.2.1. <i>Origines naturelles</i>	40
3.2.2. <i>Sources industrielles</i>	42
3.3. Mécanismes de dispersion du cadmium	45
3.4. Contamination des organismes terrestres	48

3.5. Transfert du cadmium vers l'homme	49
3.6. Métabolisme du cadmium	53
3.7. Toxicité du cadmium	54
3.7.1. <i>Intoxication aiguë</i>	55
3.7.2. <i>Intoxication chronique</i>	55
3.8. Effets tératogéniques du cadmium	57
Glossaire de termes médicaux	58
Résumé du chapitre I	59

Chapitre II : DESCRIPTION DU MATERIEL ETUDIE ET DES METHODES
D'OBSERVATION UTILISEES 62

1. PRELEVEMENTS ET METHODES DE CULTURE DU SANG PERIPHERIQUE DES MAMMIFERES	62
1.1. Matériel cultivé	62
1.2. Milieu de culture	63
1.2.1. <i>Composition</i>	63
1.2.2. <i>Préparation</i>	63
1.2.3. <i>Stérilisation</i>	66
1. Matériel utilisé	66
2. Système de filtration	66
3. Mode d'emploi	67
1.3. Procédé de culture de sang périphérique	68

1.3.1. <i>Prélèvement du sang</i>	68
1.3.2. <i>Mise en culture</i>	69
1.3.3. <i>Durée de la culture</i>	69
1.3.4. <i>Incubation et arrêt de la culture</i>	69
1.3.5. <i>Préparation des lames microscopiques</i>	72
1. Choc hypotonique	72
2. Fixation	72
3. Coloration et montage des préparations	73
2. PRELEVEMENT DE LA MOELLE OSSEUSE ET PREPARATION DES CHROMOSOMES CHEZ LA SOURIS	74
2.1. Prélèvement de la moelle osseuse	74
2.2. Préparation des chromosomes	74
2.3. Préparation des lames	75
3. METHODE D'ANALYSE ET TYPES D'ANOMALIES CHROMOSOMIQUES OBSERVEES	75
3.1. Méthode d'analyse des lames	75
3.2. Relation entre le cycle cellulaire et les types d'anomalies de structure	75
3.3. Description des types d'aberrations	76
3.3.1. <i>Aberrations de type chromosomique</i>	76
1. Délétions terminales	76
2. Chromosomes "minute"	79

3. Anneaux acentriques	79
4. Anneaux centriques	79
5. Inversions péricentriques	80
6. Echanges interchromosomiques symétriques	81
7. Echanges interchromosomiques asymétriques	81
<i>3.3.2. Aberrations de type chromatidique</i>	83
1. Lacunes	85
2. Cassures des chromatides	85
<i>3.3.3. Aberrations de type subchromatidique</i>	86
<i>3.3.4. Classification plus générale</i>	86
1. Cellules de type A	86
2. Cellules de type B	87
3. Cellules de type C	87
<i>3.3.5. Anomalies numériques</i>	88
1. Aneuploidie	88
2. Polyploidie	89
3. Endoréduplication	90
<i>3.3.6. Illustrations des anomalies décrites</i>	90
Résumé du chapitre II	102

Chapitre III : ETUDE DES PARAMETRES INFLUENCANT LES TAUX

D'ANOMALIES OBSERVABLES

104

1. INFLUENCE DE LA TEMPERATURE ET DE LA DUREE DE LA CONSERVATION DU SANG	104
1.1. Introduction	104
1.2. Matériel et Méthodes	105
1.3. Résultats	105
1.4. Discussion et conclusion	108
2. INFLUENCE DE LA NATURE DU RECIPIENT	114
2.1. Introduction	114
2.2. Matériel et méthodes	115
2.3. Résultats	115
2.4. Discussion et conclusion	117
3. INFLUENCE DE L'ÂGE DU DONNEUR DE SANG	118
3.1. Introduction	118
3.2. Matériel et méthodes	119
3.3. Résultats	120
3.4. Discussion et conclusion	122
Résumé du chapitre III	123
Chapitre IV : ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE EFFECTUEE CHEZ LES TRAVAILLEURS DE LA METALLURGIE DU ZINC	126

1. DESCRIPTION DE L'INDUSTRIE	126
1.1. Etapes de la production	127
1.1.1. <i>Enrichissement et traitement du minerai</i>	127
1.1.2. <i>Fours</i>	127
1.1.3. <i>Raffinage</i>	128
1.1.4. <i>Fonderies et laminoirs</i>	128
1.2. Métallurgie du plomb et du cadmium	129
1.3. Implantation et production de l'industrie examinée	129
2. DESCRIPTION DE LA POPULATION ETUDIEE	130
3. RESULTATS DES ANALYSES	133
4. DISCUSSION ET CONCLUSIONS	137
Résumé et conclusions du chapitre IV	142
Chapitre V : RECHERCHES EXPERIMENTALES SUR LES EFFETS CYTO- GENETIQUES DU ZINC, DU PLOMB ET DU CADMIUM	144
1. ETUDES "IN VITRO" SUR LES LYMPHOCYTES HUMAINS	144
1.1. Matériel et méthodes	144
1.2. Résultats	144
1.3. Discussion et conclusions	146

2. EXPERIENCES REALISEES "IN VIVO" SUR LA SOURIS	154
2.1. Matériel et méthodes	154
2.2. Résultats	155
2.3. Discussion et conclusions	166
3. CONTAMINATION DES SINGES "IN VIVO"	170
3.1. Matériel et méthodes	170
3.2. Résultats	171
3.3. Discussion et conclusions	178
Résumé et conclusions du chapitre V	179
DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSIONS	181
1. MUTAGENICITE DES METAUX PRIS INDIVIDUELLEMENT	181
1.1. Mutagénicité du zinc	181
a. Bactéries	182
b. Plantes	183
c. Drosophile	183
d. Cellules de mammifères traitées "in vitro"	183
e. Mammifères traités "in vivo"	184
Conclusions	184
1.2. Mutagénicité du plomb	185

<i>a. Bactéries</i>	185
<i>b. Plantes</i>	185
<i>c. Drosophile</i>	186
<i>d. Cellules de mammifères traitées "in vitro"</i>	186
<i>e. Mammifères traités "in vivo"</i>	186
Conclusions	187
1.3. Mutagénicité du cadmium	188
<i>a. Bactéries</i>	188
<i>b. Plantes</i>	188
<i>c. Drosophile</i>	189
<i>d. Cellules de mammifères traitées "in vitro"</i>	189
<i>e. Mammifères traités "in vivo"</i>	190
Conclusions	190
2. INTERACTIONS ENTRE LES DIVERS METAUX	191
2.1. Interaction zinc-cadmium	191
2.2. Interaction zinc-plomb	193
2.3. Interaction calcium-cadmium	194
2.4. Interaction calcium-plomb	194
2.5. Interaction plomb-cadmium	195
BIBLIOGRAPHIE	198

INTRODUCTION

Durant de nombreuses années, les chercheurs s'intéressant aux propriétés mutagéniques des éléments qui constituent notre environnement ont concentré leurs recherches sur les radiations ionisantes. Les explosions nucléaires d'Hiroshima et de Nagasaki, avec leurs conséquences tragiques pour des milliers de personnes, avaient en effet brusquement révélé au grand public les conséquences que pouvait avoir pour les êtres vivants une exposition à ce type de rayonnement, et le prix Nobel attribué en 1946 à H.J. MULLER pour sa découverte, en 1927, des propriétés mutagéniques des rayons X, attirait en plus l'attention sur le fait qu'une exposition des parents aux rayonnements ionisants pouvait se traduire par une augmentation des déficiences génétiques dans la descendance.

A l'instar des Etats-Unis, qui venaient de créer le laboratoire d'Oak-Ridge, des centres de recherche en radiobiologie furent construits un peu partout dans le monde (Fontenay aux Roses en France, Harwell en Grande Bretagne, Neuherberg en Allemagne, Leiden aux Pays Bas, Mol en Belgique, etc.). Les études qui y ont été réalisées ont permis de comprendre les mécanismes d'action des rayonnements ionisants sur les cellules vivantes, la nature exacte et les causes des effets observés, l'efficacité biologique des divers types de rayonnement etc.

L'intérêt pour ces études s'est encore accru lorsqu'une contestation s'est fait jour dans le public quant à l'utilisation de l'énergie nucléaire pour compenser le coût croissant des produits pétroliers.

Le grand public, tout comme d'ailleurs les responsables politiques et même certains hommes de science, ont ainsi perdu de vue que dans notre environnement il y avait également et même surtout des substances chimiques. L'amélioration des techniques de synthèse explique le nombre impressionnant de ces produits à l'heure actuelle. Un rapide examen [LEONARD, 1978] montre en effet que l'on n'en connaît pas moins de 3 500 000 différents, dont près de 30 000 sont fabriqués à l'échelle industrielle. Chaque année 25 000 substances nouvelles viennent s'ajouter à cette liste impressionnante. Grâce aux travaux d'AUERBACH publiés dans les années 40 [1944 ; 1946] on savait que certains produits possédaient des propriétés mutagéniques, mais il a fallu des catastrophes telles que les intoxications par le mercure, le cadmium ou la dioxine, pour que l'on prenne réellement conscience de l'importance du problème. Aux techniques mises au point pour l'étude des effets des radiations ionisantes se sont ajoutées de nouvelles méthodes d'investigation plus appropriées aux substances chimiques, mais malgré les efforts déployés ces derniers temps, 6000 substances seulement ont été étudiées du point de vue de leurs propriétés mutagéniques possibles [LEONARD, 1978].

Ce travail constitue une contribution à l'étude d'un problème préoccupant à l'heure actuelle, celui de l'exposition professionnelle ou non aux substances chimiques. Nous avons choisi d'étudier l'exposition au zinc, au plomb et au cadmium, d'une part parce que la Belgique est un important producteur de ces métaux, et d'autre part parce que la Commission des Communautés Européennes, s'étant rendue compte du danger potentiel que pouvait présenter une exposition chronique

à ces métaux, a encouragé les recherches en ce domaine en apportant son aide financière à différents laboratoires qui s'intéressaient à la question, et notamment au Laboratoire de Génétique des Mammifères de Mol. Ainsi que nous l'avons déjà signalé dans notre avant-propos, nous pensions à l'origine ne réaliser qu'une étude épidémiologique sur les travailleurs exposés professionnellement à ces trois métaux. Au fur et à mesure que progressait notre travail, nous nous sommes rendu compte des difficultés que présentait une étude telle que celle que nous effectuions sur les travailleurs des usines de métaux lourds. Par suite de l'exposition simultanée à différents métaux lourds, et étant donné l'impossibilité de contrôler ou même simplement de connaître tous les agents mutagéniques auxquels pouvaient être soumis nos travailleurs, nous avons été amené à compléter nos observations sur l'homme par des recherches expérimentales en laboratoire. Ces expériences réalisées en conditions rigoureusement contrôlées nous ont permis de comprendre et d'expliquer les résultats positifs obtenus chez l'homme. Sans avoir la prétention d'avoir entièrement résolu le problème de la mutagénicité du zinc, du plomb et du cadmium, nous pensons néanmoins que notre travail a permis de répondre à certaines questions et de dégager un modèle expérimental qui pourrait être suivi dans des études sur d'autres substances chimiques.

Chapitre I

LE ZINC, LE PLOMB ET LE CADMIUM DANS L'ENVIRONNEMENT

1. LE ZINC

1.1. Propriétés chimiques et physiques du zinc et de ses composés

Le zinc a été isolé pour la première fois au début du XIX^e siècle. C'est un solide, cassant à froid, mais malléable entre 100 °C et 150 °C ; il a pour densité 7,1, fond à 419,4 °C et bout à 929 °C. A l'air humide, il se couvre d'une couche terne protectrice d'hydrocarbonate. Il brûle au rouge avec une flamme verte en donnant l'oxyde (ZnO). Il est facilement attaqué à froid par les acides dilués et à chaud par les alcalis. Parmi ses composés, citons l'oxyde (ZnO), poudre blanche employée en peinture sous le nom de blanc de zinc ou blanc de neige, le chlorure (ZnCl₂) qui est un solide blanc employé comme déshydratant, le sulfure (ZnS) qui existe dans la nature sous forme de blende, le sulfate (ZnSO₄) qui est un désinfectant.

1.2. Origines et sources du zinc dans l'environnement

1.2.1. Origines naturelles

Deux groupes de minerais sont exploités : les minerais oxydés, type calamine (carbonate et silicate de zinc) et les minerais sulfurés, type blende ou sphalérite, ZnS, dont la teneur en métal est couramment de 40 à 50 %, mais auquel sont associés aussi les sulfures de plomb et de cadmium.

1.2.2. Sources industrielles

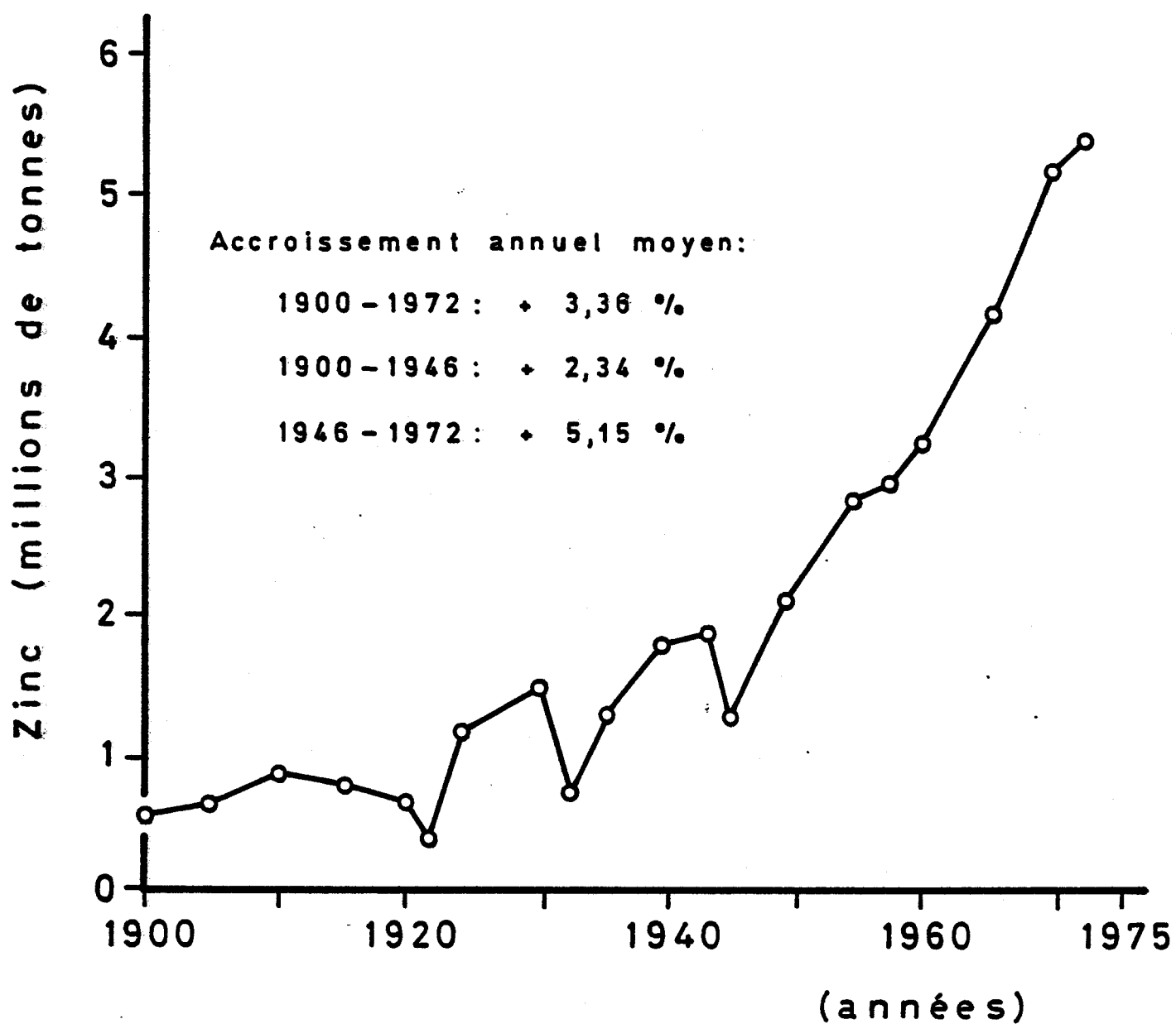
La production minière de zinc a fortement augmenté depuis la dernière guerre mondiale. Comme on le voit sur la figure 1 elle dépasse actuellement 5 millions de tonnes. Précisons que la Belgique est un producteur très important : avec la France, elle se classe en 2^e position au niveau Européen, juste après l'Allemagne. D'autre part la figure 2 donne une idée de la consommation du zinc dans les diverses régions mondiales. Celle-ci est très importante du fait du large spectre d'utilisation de ce métal. Ainsi, il est employé pour le recouvrement des toitures en raison de son inaltérabilité à l'air due à la formation d'une couche de carbonate hydraté. Il intervient également dans la fabrication de piles sèches, dans l'imprimerie, etc.. On l'utilise aussi dans de nombreux alliages tels que les laitons (cuivre et zinc), les bronzes spéciaux (cuivre-étain-zinc), les maillechorts (cuivre-zinc-nickel), les alliages du type Zamak (zinc-aluminium-cuivre-magnésium). Les composés de zinc ont des usages spécifiques en pharmacologie : les sels de zinc sont en effet des antiseptiques et des sédatifs du système nerveux ; toutefois, lorsqu'ils sont solubles, ils peuvent être toxiques et caustiques.

1.3. Mécanismes de dispersion du zinc

Des particules d'aérosol peuvent, dans certains cas, demeurer en suspension dans l'atmosphère durant plusieurs jours et même quelques semaines. Elles peuvent dès lors, être transportées vers des régions fort éloignées de leur source d'émission. Ainsi, des zones d'air non pollué peuvent être contaminées par des aérosols anthropogéniques. D'autre part, les métaux lourds sont aussi des constituants de la croûte terrestre et il est donc raisonnable de penser que certains aérosols de

Figure 1

PRODUCTION MONDIALE DE ZINC DE 1900 A 1972

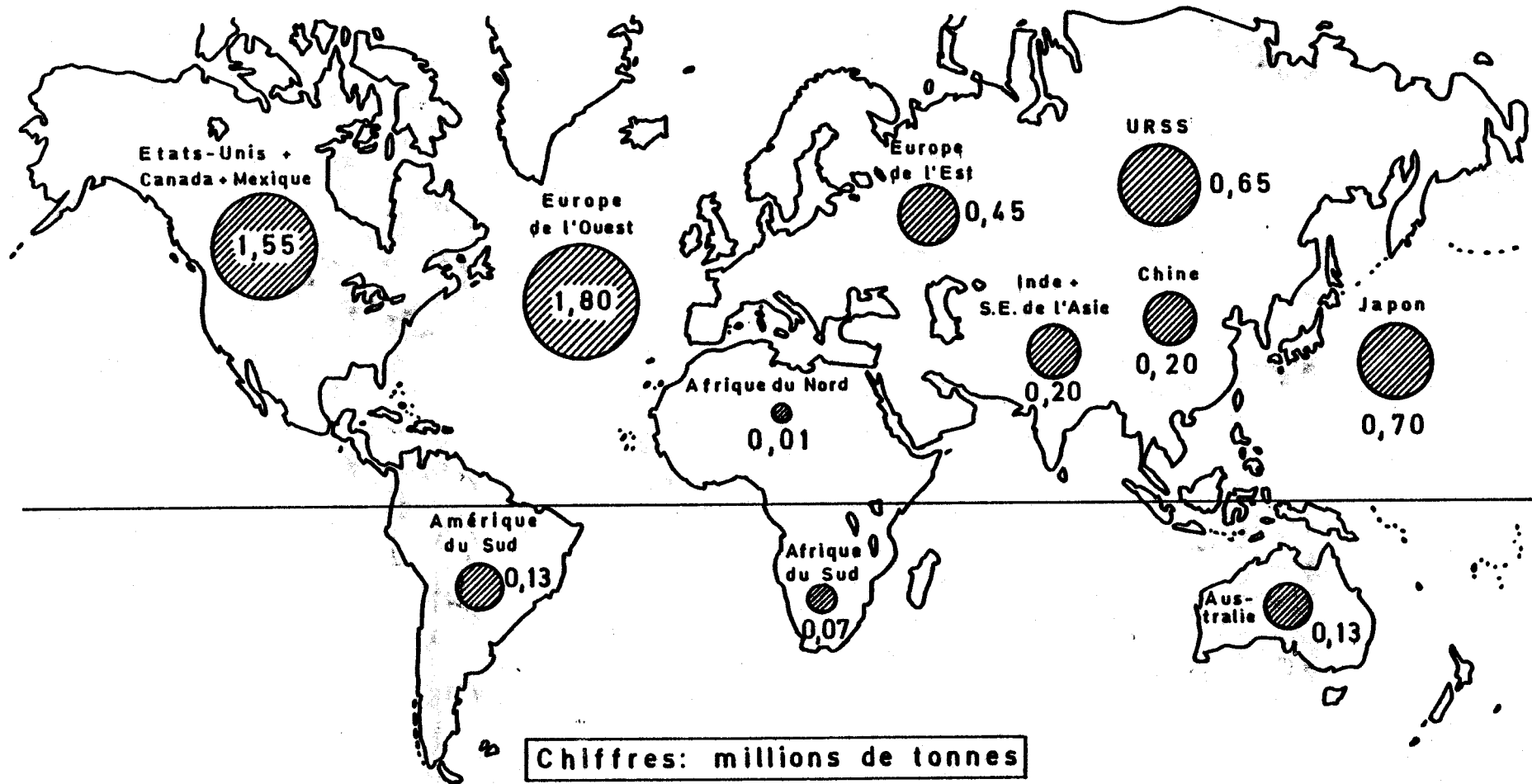


[D'après TEWORTE, 1975]

Figure 2

CONCENTRATION DE LA CONSOMMATION DE ZINC (INCLUS LE ZINC RECYCLE) DANS

L'HEMISPHERE NORD



Consommation mondiale de zinc en 1971: 6,0 millions de tonnes
dont hémisphère nord: 5,65 millions de tonnes (94 %)
hémisphère sud: 0,35 millions de tonnes (6 %)

[D'après TEWORTE, 1975]



métaux lourds proviennent de sources naturelles.

Les fonderies et les fours de grillage représentent les principales sources d'émission de zinc atmosphérique. Une émission limitée peut avoir lieu à l'occasion de l'incinération de vieux pneus, de bandes de transport et de certains plastiques : 4 % de la consommation totale d'oxyde de zinc sont utilisés dans l'industrie du caoutchouc, et certains plastiques peuvent contenir jusqu'à 1 % de zinc, qui joue le rôle de stabilisateur. Peu de mesures ont été prises pour contrôler ces émissions, alors que le niveau de contamination de l'air peut être extrêmement élevé. En 1959-1965 à Mulheim (Ruhr), LANGMANN et KETTNER [1968] ont trouvé, avant l'installation d'un système de filtration adopté dans les industries de galvanisation et les fonderies, des dépôts journaliers de zinc variant de 67 à 120 mg par m² de surface ; après l'installation, la valeur correspondante était de 0,8 à 2,0 mg/m²/jour. Une enquête médicale simultanée a révélé que les cas de bronchite étaient deux fois plus nombreux dans la zone contaminée que dans les parties non contaminées de la ville. HETTICHE [1964] a trouvé un taux de zinc de 1 µg/m³ à Hamburg et SCHROEDER et al. [1970] une contamination variant entre 0,01 et 0,84 µg/m³ dans 43 villes des Etats-Unis, et entre 0,013 et 0,2 µg/m³ dans 27 aires rurales. A Cincinnati [CHOLAK et al., 1950] on a obtenu une moyenne de 1,8 µg de zinc/m³ en été et de 2,4 µg en hiver. Les mêmes auteurs ont noté des concentrations de 1,6 µg de zinc/m³ dans les zones rurales, de 1,5 µg/m³ dans les zones résidentielles et de 2,2 µg/m³ dans les centres industriels. En Angleterre et au Pays de Galles, le niveau de contamination a atteint dans 11 villes 0,91 µg/m³ [Annual

Report on Alkali, 1971)].

1.4. Contamination des organismes terrestres par le zinc

Le zinc, tout comme le plomb et le cadmium, est largement répandu et se retrouve dans tous les types de sols. Celui-ci contient en moyenne 50 ppm de zinc, les valeurs extrêmes allant de 10 à 300 ppm [WINOGRADOW, 1954 ; SWAINE, 1955]. Le contenu en zinc des plantes est conditionné, d'une part par le type de plante et sa localisation, et d'autre part par le degré de solubilité du zinc dans le sol. Pour des plantes saines, les concentrations en zinc varient entre 20 et 100 ppm de matière sèche. Des symptômes de déficiences en zinc ont été observés pour des concentrations de 1 à 20 ppm, et des dommages dus à un excès de zinc pour des concentrations de 500 à 7500 ppm [LEH, 1969]. Dans le voisinage des fonderies de zinc au Pays de Galles (Grande Bretagne), les contenus en zinc s'élèvent dans le sol jusqu'à 1300 ppm et dans les plantes jusqu'à 360 ppm [ALLOWAY et DAVIES, 1971]. Des valeurs plus élevées (de 400 à 14 000 ppm) ont été observées dans des mousses et des lichens des Pennines (Angleterre Central) [SCHIMMEL et LAURIE, 1972]. Des enrichissements en zinc dans les sols et les plantes le long des autoroutes ont aussi été mentionnés : à une distance de 32 m de l'autoroute, le sol superficiel (0 à 5 cm) contient 43 ppm de zinc, et à une distance de 8 m, il atteint 192 ppm. A ces endroits, la concentration dans l'herbe monte de 41,2 à 64,5 ppm [LAGERWERFF et SPECHT, 1970 a;b]. Cette augmentation en zinc minéral est attribuée à la circulation automobile (usure des pneus et des carrosseries, lubrification par les huiles) [IMPENS, communication personnelle].

1.5. Transfert du zinc vers l'homme

Comme nous l'avons signalé précédemment, la pollution de l'air par le zinc est due avant tout à l'industrie, mais provient également en partie de la combustion du caoutchouc et de certains plastiques. Ces sources artificielles sont responsables des quantités accrues de zinc que nous absorbons chaque jour. La quantité de zinc présente dans la ration alimentaire quotidienne varie normalement de 6 à 15 mg, (ce qui est largement suffisant), mais un seul repas (250 g) comprenant des légumes contaminés récoltés au voisinage d'une usine de zinc peut en contenir 20 mg (Tableau I).

Tableau I

Zinc dans des plantes de consommation au voisinage d'une usine de métaux

Plante	Matière fraîche (ppm)	Matière sèche (ppm)
Poireau	3,1	28
Concombre	1,6	50
Tomate	2,4	41
Haricot vert	0,1	1,0
Carotte	1 - 36	10 - 350
Laitue	1,8 - 11	35 - 216
Chou blanc	1,6 - 15	20 - 190
Endive	3,4	60
Pomme	0,4 - 1,6	2,9 - 11
Poire	2 - 18	12 - 110

[D'après MICHELS et al., 1975]

La dose toxique pour l'homme dépasse les 400 mg [LANG, 1952] mais une ingestion aussi élevée est rare, et une dose de 150 mg provoque déjà des vomissements.

1.6. Métabolisme du zinc

Contrairement au plomb et au cadmium, le zinc doit être présent à l'état de traces dans l'organisme humain et les symptômes de déficience apparaissent si une quantité minimale n'est pas absorbée. Parmi les symptômes les plus caractéristiques d'une déficience en zinc signalons, outre une perte de poids et des troubles de la croissance [CALDWELL et al., 1970 ; PETERING et al., 1971], une dégénérescence des testicules avec diminution simultanée des productions d'hormones sexuelles [VALLEE, 1959] et certains troubles dermatologiques [VALLEE, 1959 ; PETERING et al., 1971]. Les 6 à 15 mg de zinc qui nous sont nécessaires chaque jour nous sont fournis par la nourriture (95,2 %), l'eau de boisson (4,0 %) et l'air inhalé (0,8 %) [EINBRODT et al., 1975]. L'excrétion se fait par le fèces (80,6 %), l'urine (17,2 %) et la sueur (2,2 %), cette dernière étant liée aux conditions climatologiques et au type de travail [SHELIN et al., 1943].

La distribution dans l'organisme est illustrée dans le tableau II. Il ne s'agit évidemment que de valeurs moyennes, étant donné qu'entre les auteurs on relève des différences relativement importantes dues aux méthodes de mesure utilisées et à l'origine des personnes étudiées.

Tableau II

Contenu en zinc de certains organes humains (valeur moyenne en mg/100 g de matière sèche) selon différents auteurs

Tissu	Eggleton [1940]	Butt et al. [1960]	Tipton et al. [1963]
Cerveau	4,3	10,4	4,64
Poumons	6,7	11,8	6,24
Rate	7,2	11,3	8,5
Coeur	10,0	14,5	10,8
Pancréas	13,5	15,2	8,05
Reins	18,6	22,7	20,70
Muscles	22,6	-	18,06
Foie	24,5	27,6	12,95
Testicules	6,2	-	7,98
Surrénales	8,2	11,0	-
Thyroïde	-	16,2	9,99

[D'après EINBRODT et al., 1975]

Les gonades se situent parmi les organes riches en zinc, ce qui explique sans doute qu'elles soient si sensibles à une carence en ce métal. Les flots du canal pancréatique contiennent aussi des quantités élevées de zinc (jusqu'à 2 %) [WEITZEL et al., 1953]. Dans le sang humain, qui nous intéresse plus particulièrement puisque c'est sur ce matériel que nous avons effectué une bonne partie de nos travaux, la répartition est fort inégale : 75 % sont localisés dans les érythrocytes, 3 % dans les leucocytes et 22 % dans le plasma [VALLEE et GIBSON, 1948].

Grâce à l'utilisation du zinc radioactif (^{65}Zn) on a pu étudier la pénétration et le parcours du zinc dans les différents organes et tissus : au début le zinc pénètre surtout dans les érythrocytes ; par la suite il est collecté par le foie, le pancréas, les reins, les muscles et la peau, avant d'être finalement déposé dans les os [SHELIN et al., 1943 ; RUBIN et al., 1961], notamment dans l'humérus et le fémur [TAYLOR, 1961]. Alors que dans le tissu osseux le zinc est très stable, on constate dans les autres tissus l'existence d'échanges continuels avec le plasma [GILBERT et TAYLOR, 1956]. Le zinc présent dans l'organisme est lié à différentes enzymes. Il est notamment un élément essentiel de l'anhydrase carbonique, [KEILIN et MANN, 1940], la déhydrogénase alcoolique [VALLEE et HOCH, 1955], la déhydrogénase lactique [VALLEE et WACKER, 1956], la glutamate déhydrogénase [VALLEE et al., 1955], la peptidase carboxique [VALLEE et NEURATH, 1954] et la phosphatase alcaline [MATHIES, 1958].

1.7. Toxicité du zinc

Chez les personnes non exposées, le zinc est absorbé par la nourriture et la boisson, tandis que chez les personnes exposées professionnellement, la contamination se fait par les poumons ou même directement par la peau.

1.7.1. Intoxication aiguë

Les cas d'empoisonnement par le zinc sont rares. L'absorption à travers les membranes de la muqueuse intestinale est faible et lente.

Comme l'excrétion urinaire est relativement rapide, le zinc ne produit jamais que des intoxications passagères. Le syndrome le plus courant d'une intoxication aiguë par le zinc est un accès de fièvre qui intervient quelques heures après l'exposition, et qui s'accompagne de nausées, de maux de tête, de douleurs dans les membres et d'un état général de faiblesse. Cette fièvre est en général de courte durée et peut être suivie elle-même d'une leucocytose contre laquelle la plupart des travailleurs développent une certaine "immunité" passagère.

1.7.2. Intoxication chronique

L'existence de cas d'intoxication chronique au zinc est très discutée et certains auteurs considèrent même que les poussières de zinc sont chimiquement inertes [COOPER, 1963 ; LANE 1965 ; DESOILLE et PHILBERT, 1967]. On a cependant pu démontrer que l'absorption de 60 à 150 mg de zinc par jour [SCHORMULLER, 1961 ; PETRI et GROHMANN, 1971] provoque l'apparition de nausées tandis qu'une dose dépassant 400 mg par jour entraîne des perturbations osseuses [LANG, 1952].

1.8. Effets tératogéniques du zinc

Une déficience en zinc provoque des malformations congénitales chez le poulet [BLAMBERG et al., 1960] et chez le rat gravide [HURLEY et SWENERTON, 1966 ; HURLEY et TAO, 1972]. Chez cette dernière espèce on a notamment observé des cas de fissure palatine, bec de lièvre, syndactylie, déformation de la queue. Ces effets seraient peut être à mettre en relation avec des perturbations dans la synthèse de l'ADN [SWENERTON et al., 1969]. Un manque de calcium semble diminuer, chez le rat, les effets tératogéniques d'une déficience en zinc et entraîne une diminution de sites de résorption et des malformations

chez les survivants [HURLEY et TAO, 1972]. Dans ce cas la femelle mobilise le calcium de son squelette en même temps qu'elle libère le zinc, qui passe au fœtus. Un excès de zinc dans le régime maternel augmente le taux d'hydrocéphalie chez le rat [O'DELL, 1969] ainsi que chez le hamster [FERM et CARPENTER, 1968].

2. LE PLOMB

2.1. Propriétés chimiques et physiques du plomb et de ses composés

Le plomb est un métal gris bleuâtre, brillant quand il n'est pas corrodé. Mou, au point qu'on peut le rayer à l'ongle, il est malléable, mais peu tenace. De densité 11,3, il fond à 327° C et bout à 1740° C. Il résiste bien aux agents chimiques, mais se ternit à l'air, par suite de la formation superficielle d'un carbonate basique de couleur grise. Ce carbonate se dissout dans l'eau de pluie, mais non dans l'eau de source, qui contient des sulfates. Ses principaux oxydes sont l'oxyde basique, PbO (massicot ou litharge) jaune-orangé, l'oxyde salin Pb₃O₄, ou minium, rouge-orangé et le bioxyde PbO₂, ou oxyde puce, de couleur brun-noir. Il est en général bivalent dans ses sels, dont les principaux sont le chlorure (PbCl₂), blanc, le sulfure (PbS), noir, le carbonate (PbCO₃), blanc et le sulfate (PbSO₄), blanc. La plupart des sels de plomb, à l'exception du nitrate et de l'acétate, sont insolubles.

2.2. Origines et sources du plomb dans l'environnement

2.2.1. Origines naturelles

Le principal minerai de plomb, constitué par le sulfure (PbS), est

appelé la galène. Il est noir et généralement associé à des sulfures d'argent, de cuivre, d'arsenic, d'antimoine, de bismuth et d'étain. Le carbonate (PbCO_3), nommé la cérusite, et le sulfate (PbSO_4), retrouvé dans l'île d'Anglesey (et pour cette raison baptisé anglésite), sont d'autres formes naturelles du plomb.

Le plomb est un des oligo-éléments les plus répandus, puisque sa teneur dans l'écorce terrestre est d'environ 16 ppm, avec 8 ppm pour les roches basiques et 20 ppm pour les roches acides [SWAINE, 1955]. La concentration moyenne de plomb dans l'air est de $0,0005 \mu\text{g}/\text{m}^3$ [PATTERSON, 1965]. Ce plomb provient de la poussière atmosphérique qui en contient en moyenne 10 à 15 ppm [CHOW et PATTERSON, 1962], et des gaz qui diffusent de l'écorce terrestre [BLANCHARD, 1966]. Ce sont ces derniers qui expliquent la présence de plomb-210 dans l'atmosphère dans des quantités qui vont de $7,1 \times 10^{-3}$ dpm/kg d'air au niveau de la terre jusqu'à 70×10^{-3} dpm/kg d'air dans la basse stratosphère [BURTON et STEWARD, 1960].

2.2.2. Sources industrielles

La pollution atmosphérique est dans chaque région conditionnée par l'activité humaine. Il en va ainsi pour le plomb : sa concentration dans l'air varie avec l'intensité du trafic et diminue en fonction de la distance par rapport aux voies de circulation. Le plomb, dont certains dérivés organiques confèrent des propriétés antidétonantes à l'essence, est rejeté dans l'air sous forme d'aérosols. Il s'agit principalement de sels inorganiques, qui représentent jusqu'à 98 % de l'émission totale de plomb (Tableau III).

Tableau III

Emission de plomb aux Etats-Unis en 1968

Source d'émission	Plomb rejeté, tonnes/an
Combustion d'essence	181 000
Combustion de charbon	920
Combustion de mazout	24
Manufacture de plomb alkyle	810
Fonderie primaire	174
Fonderie secondaire	811
Manufacture de laiton	521
Manufacture d'oxyde de plomb	20
Transfert d'essence	36
Total	184 316

[Cité dans Airborne lead in perspective, 1972]

Certaines industries telles que les fabriques de zinc, les fonderies de plomb et les usines d'accumulateurs peuvent dans certaines localités, augmenter considérablement la quantité de plomb présent dans l'air [MUROZUMI et al., 1969]. En 1969 on estimait que le monde occidental possédait des réserves de plomb suffisantes pour les besoins des 30 prochaines années. Ces réserves sont principalement localisées aux Etats-Unis, au Mexique, au Canada et en Australie. La récupération des vieux métaux peut couvrir jusqu'à 40 % des besoins. On prévoit pour les prochaines années un accroissement de la consommation de l'ordre de 2,5 % par an. L'évolution de la production mondiale de plomb, et ses principaux

consommateurs sont présentés dans les figures 3 et 4.

Le plomb se distingue par une série de propriétés spécifiques qui déterminent ses utilisations principales. Nous les avons résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau IV

Utilisations principales du plomb

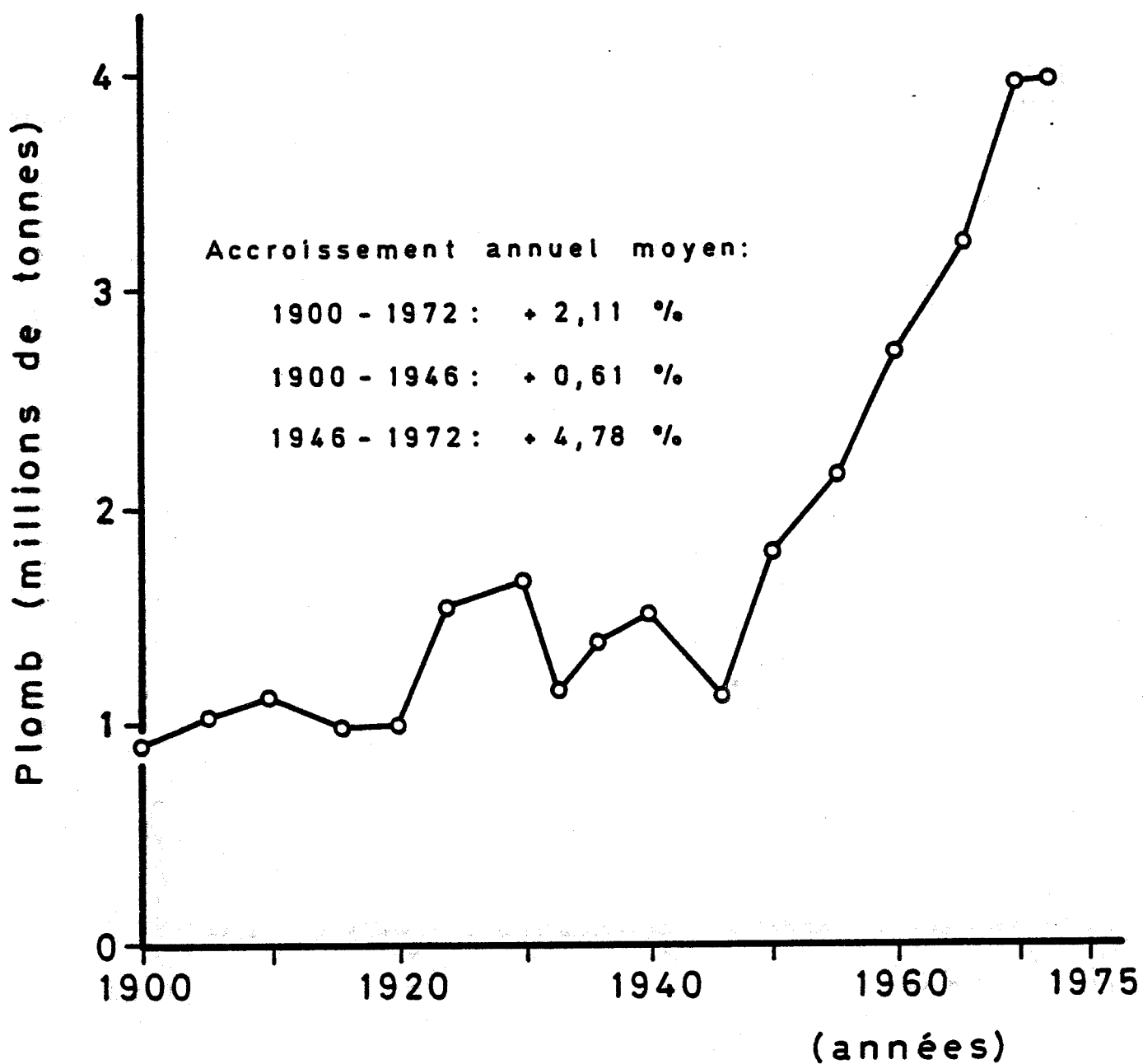
Propriétés spécifiques	Utilisations principales
Inertie chimique Densité élevée	Accumulateurs, câbles, tôles Lests et balourds, protection contre les rayonnements, munitions
Bas point de fusion Ductilité	Imprimerie, soudures Scellage, garnitures des freins
Indice de réfraction des silicates	Cristal et porcelaine
Coloration des sels	Peintures, émaux
Toxicité des sels	Insecticides, fongicides
Antidétonant	Essence

2.3. Mécanismes de dispersion du plomb

La plus grande partie du plomb présent dans l'atmosphère provient, nous l'avons vu, des activités industrielles, les sources naturelles ne contribuant que de façon insignifiante à cette contamination.

Figure 3

PRODUCTION MONDIALE DE PLOMB DE FONDERIE
DE 1900 A 1972



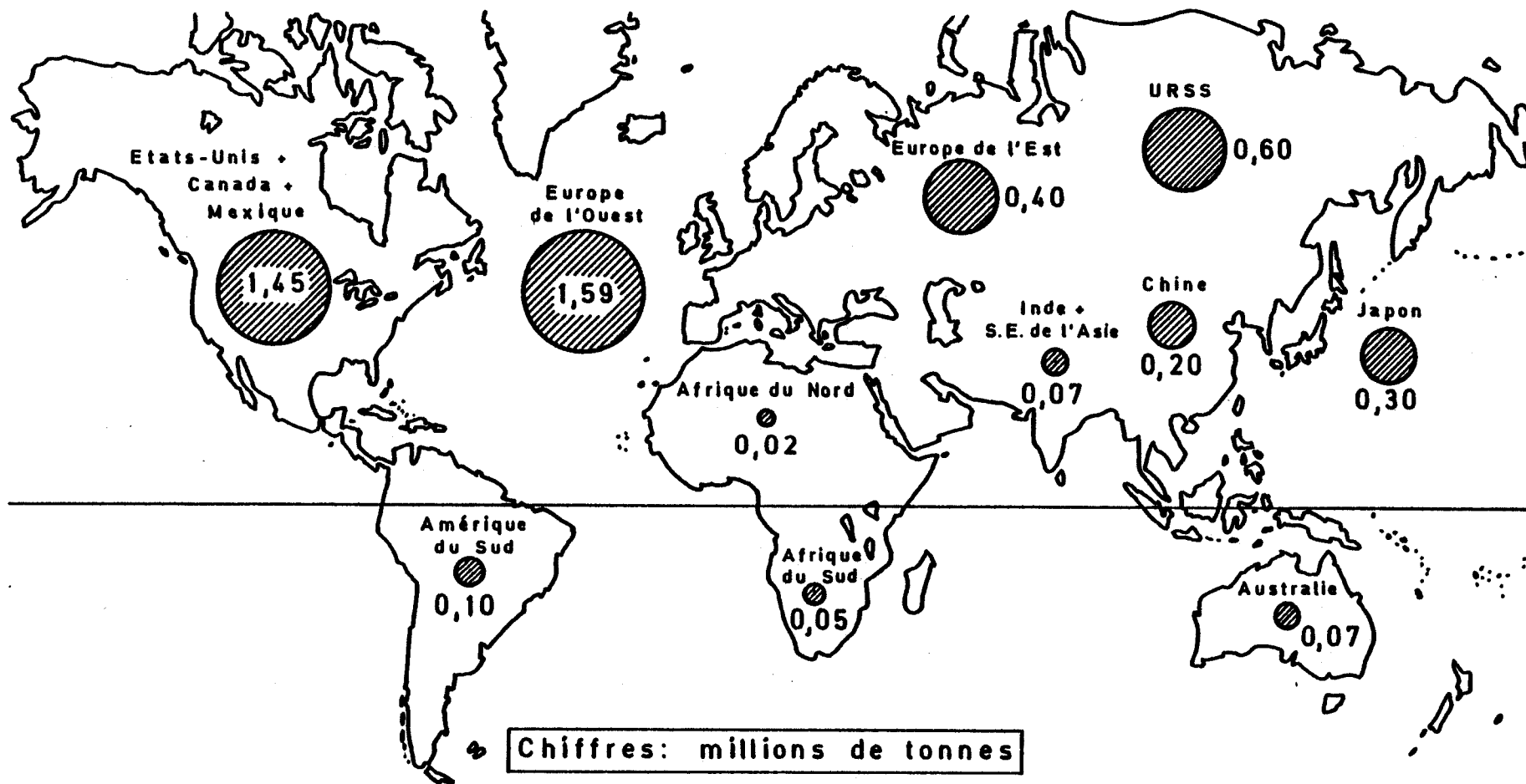
[D'après TEWORTE, 1975]



Figure 4

CONCENTRATION DE LA CONSOMMATION DE PLOMB (INCLUS LE PLOMB RECYCLE) DANS

L'HEMISPHERE NORD



Consommation mondiale de plomb en 1971: 4,85 millions de tonnes
 dont hémisphère nord: 4,6 millions de tonnes (95 %)
 hémisphère sud: 0,25 millions de tonnes (5 %)

[D'après TEWORTE, 1975]

Une réunion d'experts de la Communauté Européenne qui s'est tenue à Luxembourg en 1972 a brossé un tableau des niveaux de contamination que l'on rencontre à l'heure actuelle en Europe Occidentale [IMPENS, pour revue, 1974]. On peut en résumer comme suit les données principales :

- a) dans les zones rurales, les valeurs moyennes mensuelles sont de $0,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$;
- b) dans les petites et moyennes agglomérations les valeurs moyennes mensuelles sont presque toujours inférieures à $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$;
- c) dans les grandes villes, il faut distinguer d'une part les quartiers résidentiels, où les teneurs moyennes mensuelles dépassent souvent $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$; et d'autre part les zones à grand trafic (Paris par exemple), où les moyennes mensuelles atteignent $6,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$!

A titre de comparaison nous avons résumé dans le tableau V les valeurs observées dans la région de Cincinnati (Etats-Unis).

Tableau V

Moyennes des concentrations de plomb dans l'air de Cincinnati, entre 1946 et 1951

Localisation	Moyennes annuelles $\mu\text{g}/\text{m}^3$	Valeurs extrêmes $\mu\text{g}/\text{m}^3$
Rurale	1,1	0,8 - 1,3
Résidentielle	1,94	1,6 - 2,5
Industrielle	3,5	3,0 - 4,1
Générale	2,7	0,8 - 4,1

[Cité dans Environnement, 1974].

C'est par l'intermédiaire des précipitations que le plomb disparaît de l'atmosphère. En analysant l'eau de pluie, on a pu calculer, pour le plomb-210, que le temps passé dans l'atmosphère varie de 7 à 30 jours [BURTON et STEWARD, 1960 ; FRANCIS et al., 1970]. Compte tenu de ce que nous avons vu précédemment, la quantité de plomb présente dans l'eau de pluie sera liée à l'activité humaine dans la région et par exemple à la quantité d'essence consommée [LAZRUS et al., 1970]. Le taux de plomb présent dans l'eau de mer non contaminée industriellement ne dépasserait pas 0,02 à 0,04 $\mu\text{g}/\ell$ [CHOW, 1968], alors que celui des lacs et des rivières atteindrait 1 à 10 $\mu\text{g}/\ell$ [LIVINGSTONE, 1963]. Le tableau VI donne un résumé des différentes concentrations de plomb trouvées dans les eaux naturelles.

Tableau VI

Plomb dans les eaux naturelles

Type d'eau	Concentration ($\mu\text{g}/\ell$)
Eau de mer	0,1 - 8
Eau de ruissellement	0,001 - 0,5
Eau de surface	0,0 - 55
Eau de boisson	1 - 60

[D'après de TREVILLE, 1964].

L'analyse des couches annuelles de neige au Groenland et en Antarctique [MUROZUMI et al., 1969] permet de se faire une idée de la progression de la pollution par le plomb. Pour les couches datant de 800 avant J.C., on trouve seulement 0,0005 $\mu\text{g}/\text{kg}$ alors que dans les couches récentes (1965) on atteint des niveaux 400 fois plus élevés (0,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$) (Figure 5).

La couche de glace correspondant à 1750 représente le début de la Révolution Industrielle, et la concentration de plomb à cette date est 25 fois plus élevée que les taux naturels. Pendant la seconde moitié du dix-huitième siècle, les concentrations de plomb ont triplé, et de 1935 à 1965, elles ont brusquement triplé à nouveau. L'augmentation la plus marquée a eu lieu après 1940.

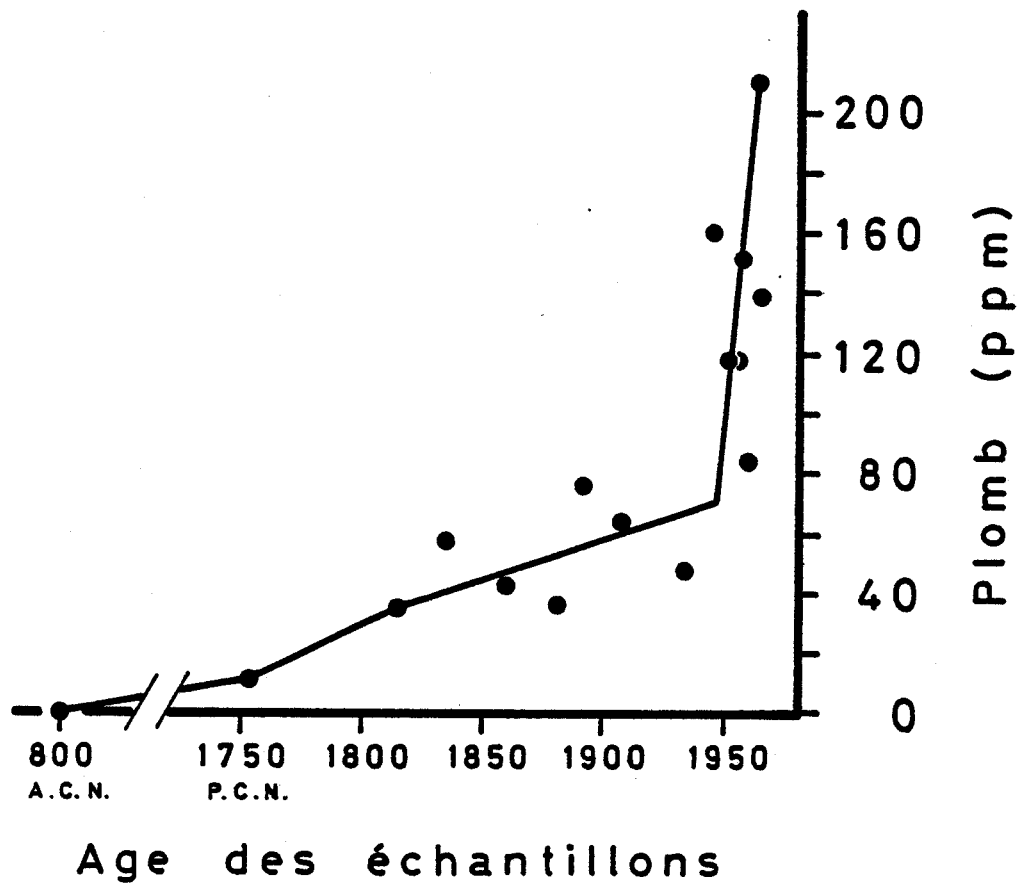
Finalement, le mouvement écologique du plomb est schématisé dans la figure 6.

2.4. Contamination des organismes terrestres

Le plomb que l'on trouve dans les plantes peut provenir du sol, de l'eau de pluie ou même de l'air. Ces différentes sources contribuent cependant de façon fort inégale aux quantités de plomb présentes dans les racines, les tiges et les feuilles de plantes. En utilisant du plomb-210, WILSON et CLINE [1966] ont démontré que seulement 0,003 à 0,005 % du plomb du sol sont absorbés par les plantes. La majorité du plomb retrouvé dans les plantes provient avant tout de l'eau de pluie [MAYNEORD et al., 1960 ; HILL, 1965 ; FRANCIS et al., 1968]. Ajoutons encore qu'on a constaté

Figure 5

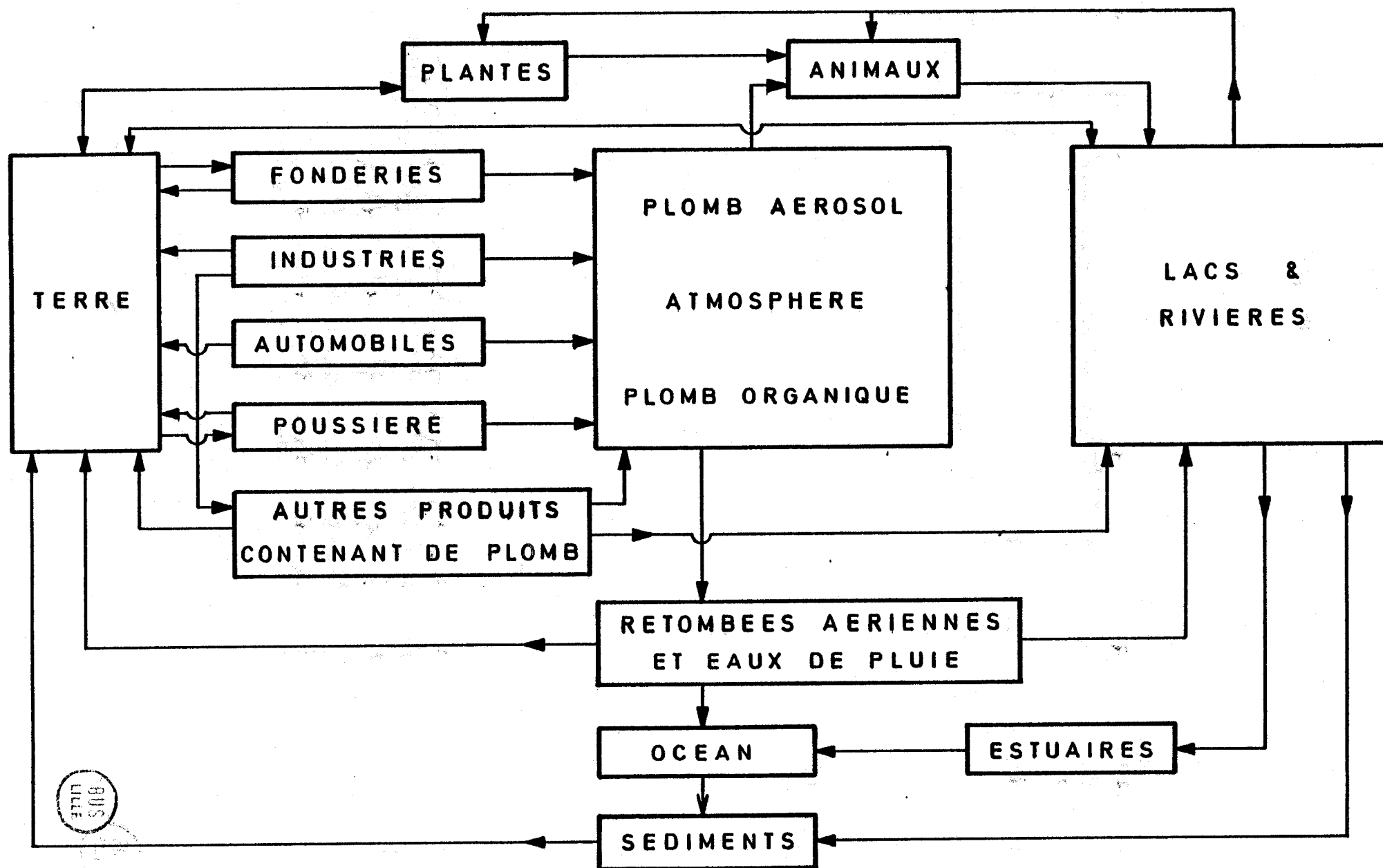
EVOLUTION DU CONTENU EN PLOMB
DANS LES NEIGES DU GROENLAND
DEPUIS 800 A.C.N. JUSQU'A NOTRE EPOQUE



[D'après MUROZUMI et al., 1969]

Figure 6

REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU CYCLE BIOLOGIQUE DU PLOMB



[Cité dans AIRBORNE LEAD IN PERSPECTIVE, 1972]

que le long des autoroutes, le plomb de l'air a tendance à s'accumuler dans le feuillage et les parties aériennes des plantes, mais n'est pas transloqué dans les parties enfouies [CANNON et BOWLES, 1962 ; WARREN et DELAVault, 1962 ; KLOKE et RIEBARTSCH, 1964 ; EVERETT et al., 1967 ; MOTTO et al., 1970]. Tout comme pour l'air, la quantité de plomb que l'on trouve dans le sol et les plantes est également fonction de la distance du point de prélèvement par rapport à la voie de circulation (Figure 7).

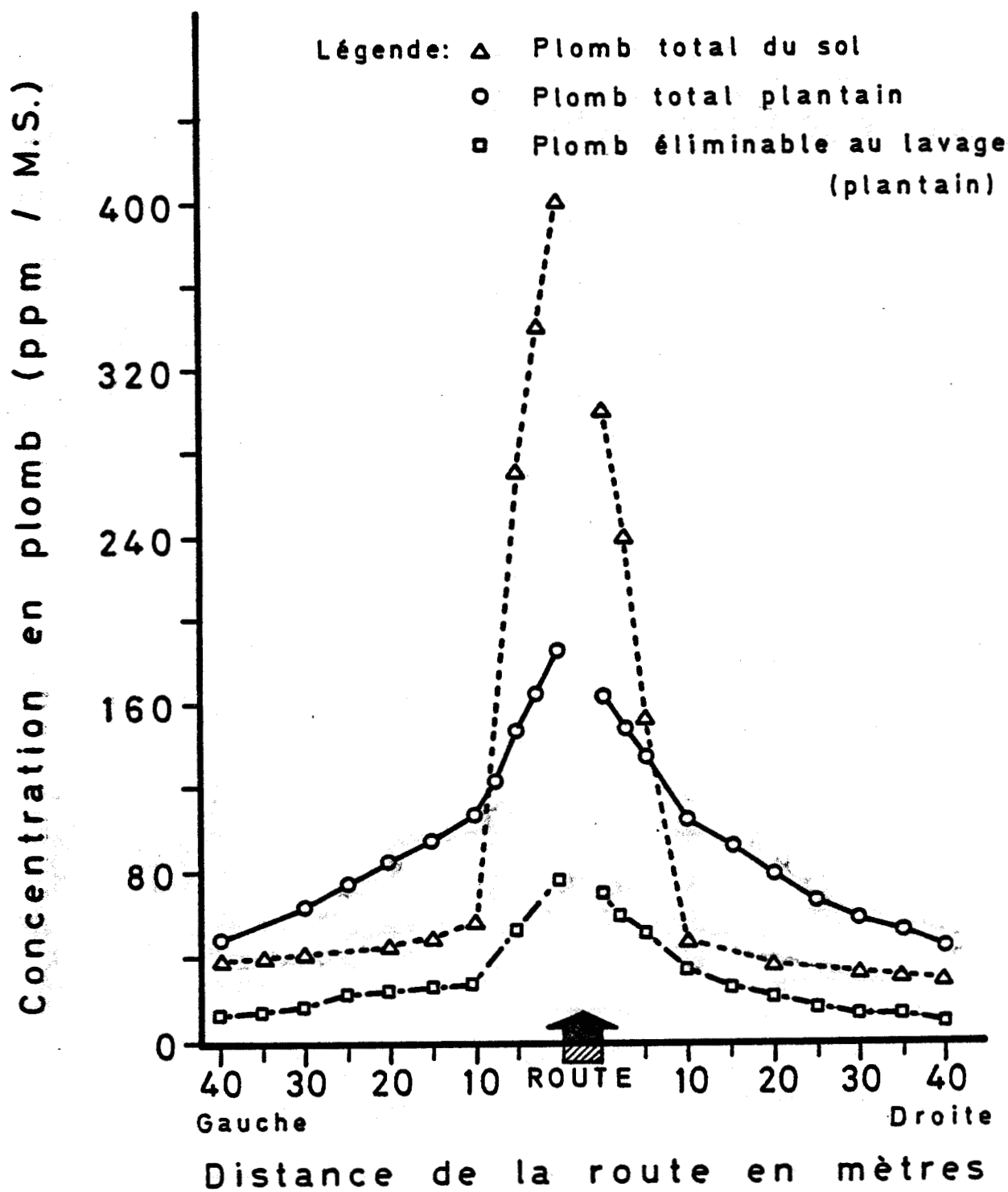
2.5. Transfert du plomb vers l'homme

Selon l'International Standards for Drinking-Water [1971], l'eau de boisson ne doit pas contenir plus de 0,1 mg de plomb par litre. Dans la pratique, cependant, on dépasse rarement 1 à 10 μg , encore que des problèmes puissent exister dans des régions où l'eau est douce ou légèrement acide. On a en effet constaté que ce type d'eau peut dissoudre une partie du plomb des conduites en plomb ou des conduites en plastique stabilisé par des produits à base de plomb et qui sont toujours utilisées dans plusieurs sociétés de distribution d'eau. Il peut en résulter des absorptions élevées de plomb allant même jusqu'au saturnisme, comme cela fut le cas naguère en Belgique, dans la région de Verviers. Un aperçu des quantités de plomb présentes dans les autres types de boisson est donné dans le tableau VII.

Figure 7

CONCENTRATION EN PLOMB DANS LE SOL
ET LES PLANTES LE LONG DE L'AUTOROUTE

"BRUXELLES-NAMUR"



[D'après IMPENS et al., 1972]

BIS
LILLE

Tableau VII

Plomb dans différentes boissons

Type de boisson	Concentration µg/l
Eau potable	1 - 500
Eau minérale	20 - 920
Lait	0 - 170
Bière	100 - 290
Jus de fruits	40 - 400
Limonade	4
Vin	50 - 1510
Eau de vie	50 - 60
Rhum	24 - 57
Whisky	26 - 27
Thé (Ceylan, trié à la main)	20
Thé (Indes, bouilloires en étain)	1800
Thé (Indes, bouilloires en plomb)	2400

[D'après de TREVILLE, 1964]

La nourriture, quant à elle, contient en moyenne 0,2 mg de plomb par kg [SCHROEDER et al., 1961 ; WARREN et DELAVAUULT, 1962] ; ce qu'à confirmé l'étude détaillée réalisée en Grande Bretagne (Tableau VIII) par TOLAN et ELTON [1972].



Tableau VIII

Teneur en plomb et estimations de la consommation des principales catégories d'aliments au Royaume-Uni

Catégorie d'aliment	Concentration moyenne en plomb mg/kg	Consommation alimentaire mg/kg	Plomb absorbé $\mu\text{g}/\text{jour}$
Céréales	0,17	0,27	46
Viande et poisson	0,17	0,18	31
Graisses	0,08	0,08	6
Fruits et confitures	0,12	0,25	30
Légumes en terre	0,20	0,21	42
Légumes verts	0,24	0,11	26
Lait	0,03	0,40	12
	0,13 mg/kg (moyenne pesée)	1,5 kg	environ 200 μg

[D'après TOLAN et ELTON, 1972].



Le tableau IX nous donne une idée de la contamination des légumes cultivés à proximité d'une usine.

Tableau IX

Plomb dans des plantes de consommation au voisinage d'une usine de métaux

Plante	Matière fraîche (ppm)	Matière sèche (ppm)
Concombre	0,24	7,5
Tomate	0,1	1,7
Haricot vert	0,005 - 0,1	0,05 - 1,0
Carotte	0,05	0,5
Laitue	1,0 - 9,0	19,6 - 176
Chou blanc	0,02 - 0,04	0,25 - 0,5
Endive	0,07	1,2
Pomme	0,12 - 8	0,86 - 57
Poire	0,18	1,09

[D'après MICHELS et al., 1975].

L'homme, qui respire de l'air contenant 2 à 4 μg de plomb par m^3 , absorbe par les poumons de 20 à 30 μg de plomb par jour. Il convient de remarquer que chaque cigarette rejette de 1 à 2 μg de plomb dans l'air [COGBILL et HOBBS, 1957]. La combustion du tabac affecte d'abord chaque fumeur pendant qu'il fume, mais cette fumée contamine

aussi l'air des locaux collectifs. Le tableau X présente une récapitulation des quantités de plomb absorbées par l'homme via l'alimentation, l'eau de boisson et l'air.



Tableau X

Ingestion et absorption du plomb par l'homme

Source	Prélèvement pour une journée	Concentration de plomb		Plomb ingéré $\mu\text{g}/\text{jour}$		Plomb absorbé (%)		Plomb absorbé $\mu\text{g}/\text{jour}$			
		Département de la Santé publique Californie [1967]	Patterson [1965]	Département de la Santé publique Californie [1967]	Patterson [1965]	Département de la Santé publique Californie [1967]	Patterson [1965]	Département de la Santé publique Californie [1967]	Patterson [1965]		
Aliment	2 kg	0,15 - 1 mg/kg/jour	0,2 - 1 mg/kg/jour	300	400	10	5	30	20		
Eau	1 kg		0,01 - 1 mg/kg/jour	-	10		-		10	-	1
Air urbain	20 m ³	2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	1,3 mg/m ³	40	26	50	40	20	10		
Tabac	30		0,8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$								10
Fumée	cigarettes						24			40	50

Cité dans Environnement, [1974]

2.6. Métabolisme du plomb

Si l'on sait [KEHOE, 1961] que l'organisme ne retient que 5 à 10 % du plomb ingéré, on connaît mal, par contre, le mécanisme par lequel le plomb traverse la muqueuse intestinale pour passer dans le sang. Il pourrait peut-être ne s'agir que d'une simple diffusion. En effet, la solubilité des différents sels de plomb est sensiblement la même dans le sérum que dans l'eau, mais l'oxyde de plomb est 100 fois plus soluble dans le sérum que dans l'eau, sans doute par formation rapide d'hydroxyde de plomb qui se lie facilement aux complexes protéiques. A partir de nombreux travaux de KEHOE avec des particules de sesqui-oxyde de plomb de diamètres de 0,05 à 1,2 μ et de concentrations de 0,075 à 0,15 μg par m^3 , BRUAUX [1972] conclut que l'absorption par voie respiratoire est de l'ordre de 50 % de la quantité totale inhalée. Quant au mécanisme de déposition et de rétention des particules inhalées, il dépend d'après TOMASHEVSKI [1966] de 4 facteurs principaux :

- la dimension et la densité des particules ;
- la nature hygroscopique de ces particules ;
- le rythme et la profondeur de la respiration ;
- la durée de l'exposition.

Le facteur le plus important qui conditionne l'absorption respiratoire est le diamètre des particules inhalées qui doivent atteindre la zone alvéolaire pour pouvoir être absorbées. Le diamètre critique semble bien être en-dessous de 1 μ . Les particules n'arrivant pas aux alvéoles sont soit expectorées soit avalées. Quant au mécanisme intime

de la traversée des parois alvéolaires, l'hypothèse la plus plausible est une solubilisation des particules au niveau du "film" qui tapisse ces parois, puis une diffusion vers les capillaires sanguins. Après avoir pénétré dans le système circulatoire, le plomb peut en principe se déposer dans tous les organes mais plus de 90 % se retrouve dans le squelette [KEHOE, 1960 ; SCHROEDER et TIPTON, 1968 ; ENGEL et al., 1971]. Il est finalement évacué par l'urine. La distribution du plomb dans l'organisme humain est donné dans le tableau XI.

Tableau XI

Concentrations moyennes du plomb dans les tissus

Tissu	Concentration mg/100 g de matière sèche
Cerveau	0,04
Poumons	0,02
Coeur	0,04
Foie	0,12
Rate	0,03
Reins	0,05
Muscles	0,03
Os courts	0,65
Os longs	1,78

[D'après KEHOE, 1960].

Il existe un équilibre entre la teneur en plomb de l'organisme (qui dépend de la quantité se trouvant dans le milieu) et la concentration que l'on observe dans le sang, et l'urine. Il en résulte qu'une dosimétrie effectuée dans un des maillons de la chaîne métabolique permet de préciser les concentrations dans la chaîne entière. La concentration du plomb dans le sang, qui est l'indicateur le plus exact de la charge existant dans l'organisme [DAVIES, 1972], est inférieure à 40 µg/100 g de sang pour une exposition normale, mais peut atteindre 80 µg/100 g de sang pour une population plus exposée. C'est à partir de cette dernière limite que se manifestent généralement les signes d'intoxication. Pour l'urine ces concentrations correspondent à des valeurs de 80 µg à 150 µg/litre (Tableau XII).

Tableau XII

Catégories d'absorption de plomb

Test	A Normale	B Acceptable	C Excessive	D Dangereuse
Plomb sanguin	<40µg/100ml	40-80µg/100ml	80-120µg/100ml	>120µg/100ml
Plomb urinaire	<80µg/l	80-150µg/l	150-250µg/l	>250µg/l
Coproporphyrines	<150µg/l	150-500µg/l	500-1500µg/l	>1500µg/l
Acide δ-amino lévulinique	<0,6mg/100ml	0,6-2mg/100ml	2-4mg/100ml	>4mg/100ml

[D'après DAVIES, 1972]

Il convient cependant d'insister sur le fait que le dosage du plomb dans l'urine peut être moins exact par suite des fluctuations dans le contenu en eau et des différences dans la capacité d'excrétion rénale. Ajoutons aussi que la concentration du plomb est à peu près 16 fois plus élevée dans les érythrocytes que le plasma [BUTT et al., 1964].

Comme nous le verrons en détail plus loin, le plomb peut entraîner certains troubles enzymatiques et perturber notamment la synthèse de la déshydratase de l'acide aminolévulinique [WALDRON, 1966 ; HERNBERG et NIKKANEN, 1970].

La plus grande partie du plomb ingéré (90 %) est directement excrété dans le fèces : 10 % seulement sont absorbés, qui seront à leur tour excrétés principalement par l'urine [KEHOE, 1961]. La transpiration, la salive et les phanères ne constituent que des voies secondaires d'élimination [SHIELS, 1954, KEHOE, 1961].

La charge totale qui subsiste dans le corps ne dépasse normalement pas 100 à 400 mg pour un adulte de 70 kg [SMITH, 1966].

2.7. Toxicité du plomb

On n'a jamais pu démontrer que le plomb était essentiel à la vie, mais on le retrouve dans tous les organismes et dans tous les tissus ; il est présent dans l'alimentation normale à un taux en apparence physiologique ; on le trouve dans les oeufs, le lait et chez le nouveau-né, ce qui implique un transfert placentaire ; il est omnipré-

sent dans la biosphère, aussi bien dans le règne animal que végétal, mais il a pratiquement toujours été étiqueté comme un poison.

2.7.1. Intoxication aiguë

Exceptionnellement le plomb peut produire des intoxications aiguës qui se manifestent par des symptômes du système nerveux (contractions musculaires, convulsions...).

2.7.2. Intoxication chronique

2.7.2.1. Intoxication par des composés inorganiques.

Quelle que soit la forme sous laquelle le plomb est administré (plomb élémentaire, oxydes etc.) les symptômes d'une intoxication chronique sont identiques. Il s'agit surtout de coliques, d'anémie, d'encéphalopathie et/ou, dans les cas graves, de paralysie.

L'anémie saturnine se caractérise a) par une altération morphologique des précurseurs des globules rouges se traduisant par la présence de mégaloblastes, d'érythroblastes polyploïdes et d'érythroblastes à ponctuations basophiles (amas d'acide ribonucléique) dans la moelle osseuse

[JENSEN et al., 1965 ; LAFONTAINE et al., 1977].

b) par une augmentation de la fragilité mécanique des globules rouges, par une diminution de la durée de vie de ces globules et par l'apparition de réticulocytes et de cellules à ponctuations basophiles dans le sang circulant [WALDRON, 1966 ; IMPENS, 1974 ; LAFONTAINE et al., 1977]. En ce cas d'imprégnation par le plomb, la synthèse de l'hème dans les érythroblastes de la moelle osseuse est perturbée par suite d'une inhibition de plusieurs enzymes [GIBSON et al., 1955 ;

SANO, 1958 ; JANDL et al., 1959 ; HAEGER-ARONSON, 1960 ; LICHTMAN et FELDMAN, 1963 ; CHISOLM, 1964 ; GRANICK et LEVERE, 1964 ; GRIGGS, 1964 ; BESSIS et JENSEN, 1965 ; WALDRON, 1966 ; ORTZONSEK, 1967 ; ULMER et VALLEE, 1969 ; HAEGER-ARONSON et al., 1971]. Cette synthèse est schématisée dans la figure 8 : les étapes altérées par une exposition au plomb y sont indiquées par une flèche barrée.

2.7.2.2. Intoxication par des composés organiques

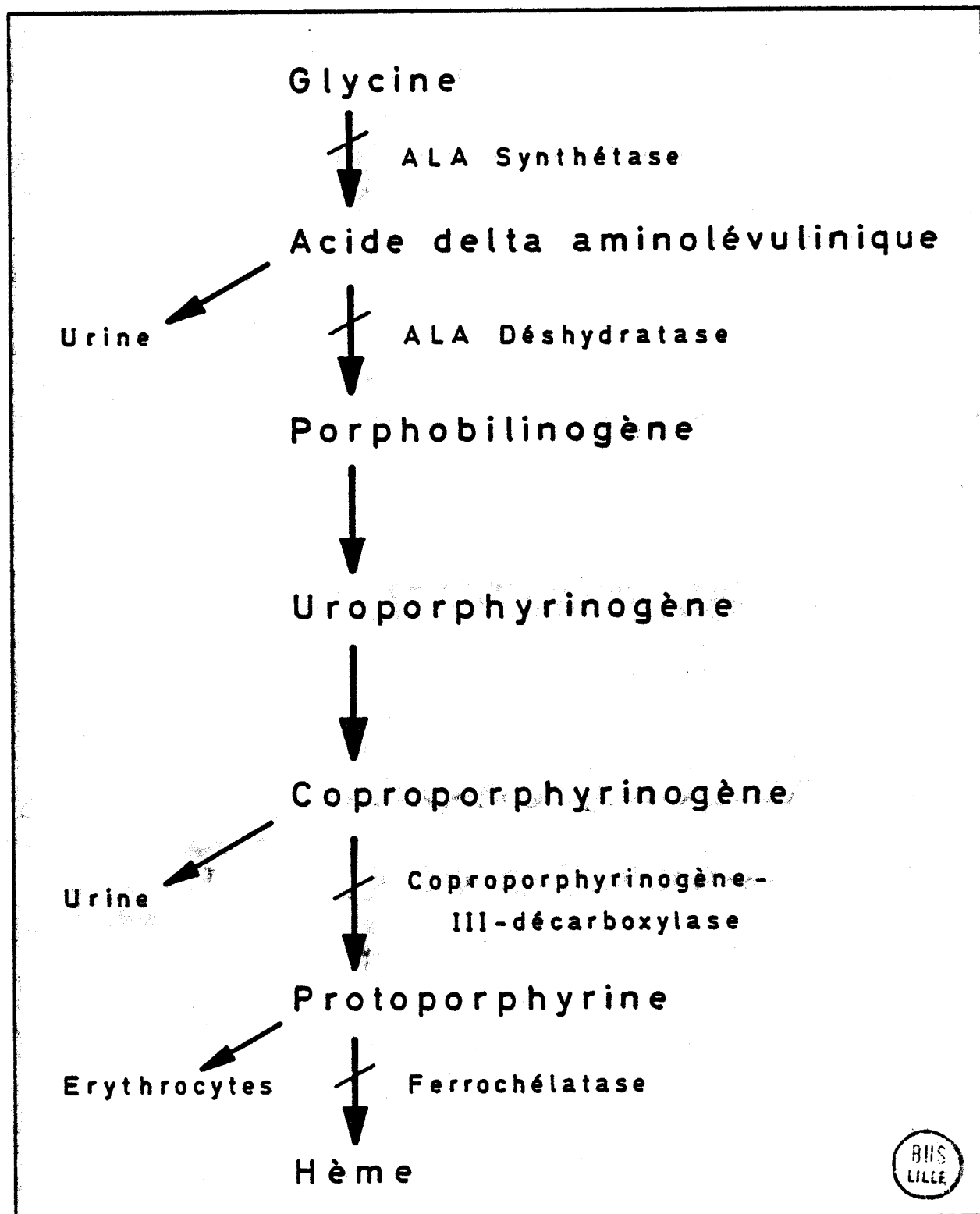
Le plomb tétraéthyle est un composé organique lipo-soluble qui est absorbé rapidement par la peau et le système respiratoire. Les premiers symptômes de ce neurotoxique sont l'insomnie, la perte de poids, l'anorexie et les nausées matinales, qui s'accompagnent de troubles psychiques tels que de l'angoisse, des cauchemars, des hallucinations, du délire et même de la folie. Les symptômes qui caractérisent l'empoisonnement au plomb inorganique tels que les coliques, les paralysies et les hématies ponctuées sont absents. Selon NIKLOWITZ [1975] ces effets pourraient s'expliquer par une action du plomb sur les membranes cellulaires et par des transformations neurofibrillaires dans les cellules nerveuses. Ajoutons que NIKLOWITZ et YEAGER [1973] ont trouvé que dans le cerveau du lapin pour chaque molécule de plomb retenue on constate une perte de 0,5 mole de zinc.

2.8. Effets tératogéniques du plomb

Chez le hamster doré [FERM et CARPENTER, 1967 a ; FERM et FERM, 1971 ; CARPENTER et FERM, 1977] le plomb provoquerait surtout des anomalies des vertèbres sacrées. Chez la souris on a signalé une augmentation des résorptions et un accroissement de l'incidence des fissures palatines

Figure 8

ACTION DU PLOMB SUR LA SYNTHÈSE DE L'HEME



[McCLAIN et BECKER, 1970 ; SCHROEDER et MITCHENER, 1971] ou de fusions cervicales [JACQUET, communication personnelle]. Chez cette dernière espèce cependant KENNEDY et al. [1971] ont obtenu des résultats entièrement négatifs. Chez le rat le plomb inorganique [McCLAIN et BECKER, 1975] produit des malformations urorectocaudales alors que le plomb organique semble sans effet [McCLAIN et BECKER, 1972]. Ajoutons encore que le plomb ne semble pas tératogénique chez le mouton [JAMES et al., 1966] mais produit de la méningocèle chez le poulet [BUTT et al., 1952] et que l'administration simultanée de sels de plomb et de cadmium accroît les effets tératogéniques chez le hamster doré [FERM, 1969].

3. LE CADMIUM

3.1. Propriétés chimiques et physiques du cadmium et de ses composés

Le cadmium a été découvert en 1817 par STROHMEYER. Ce solide blanc brillant, ayant l'aspect de l'étain, a pour densité 8,6, fond à 320° C et bout à 766° C. Il est malléable et ductile et est peu altéré par l'air. Chauffé, il brûle en dégageant des fumées brunes d'oxyde de cadmium, d'odeur désagréable. Il est bivalent dans ses composés, dont les formes les plus répandues sont le sulfure (CdS) ou cadmiumblende, le carbonate (CdCO₃) et l'oxyde (CdO).

3.2. Origines et sources du cadmium dans l'environnement

3.2.1. Origines naturelles

Le cadmium n'existe pas dans la nature en tant que métal pur. Il est en fait presque toujours associé au zinc, dont il est physiquement et

chimiquement très proche. Le rapport cadmium/zinc est compris entre 1/1000 et 1/12 000 [O.M.S., 1972] dans la plupart des sols et des minerais, mais peut cependant varier comme le montre le tableau XIII.

Tableau XIII

Matériel	Concentration en cadmium %
Ecorce terrestre	0,000055
Réserves géologiques (% des réserves de zinc)	0,5
Minerais	
Zinc-blende	0,1 - 5,0
Pirramite	5,0
Minerais de zinc polymétalliques	0,01 - 0,5
Minéraux primaires	
Greenockite (CdS)	<77,6
Octavite (CdCO ₃)	<61,5

[D'après ATHANASSIADIS, 1969].

Dans le sol, la concentration du cadmium [BARROWS, 1967] varie de 0,55 à 2,45 ppm dans les zones non cultivées à 3,88 ppm dans les zones cultivées, tandis que dans les couches sous-jacentes, elle est de 0,18 ppm [SWAINE, 1955]. Sa présence dans le milieu est donc normale à l'état de traces. Les eaux naturelles en contiennent d'infimes quantités à l'état dissous. La dispersion du cadmium se trouvant dans le minerai est due à des phénomènes de solubilisation, d'érosion et de ruissellement. Ainsi, dans les eaux de surface proches des gisements de minerais auxquels le cadmium est typiquement associé, les concentrations en ce métal sont nettement plus élevées qu'ailleurs [HARRIS, 1972]. Il semble cependant qu'aucune étude n'ait été entreprise pour quantifier ce mécanisme de dispersion naturelle, et il n'est guère possible de le

dissocier des phénomènes de dispersion purement artificiels résultant des activités minières de ces régions.

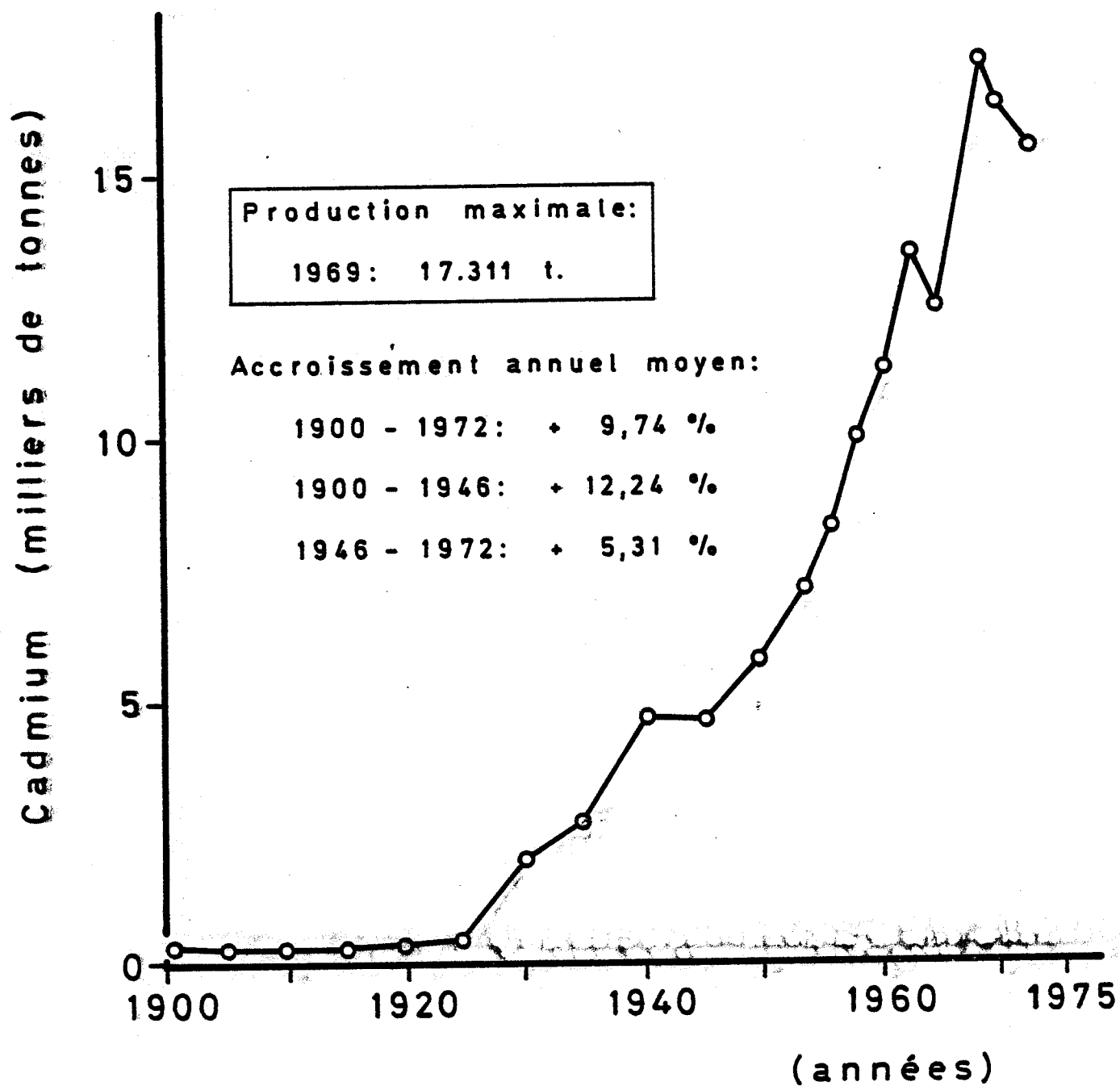
3.2.2. Sources industrielles

Puisque les minerais de cadmium n'existent presque pas comme tels; le cadmium est un sous-produit du raffinage d'autres métaux, principalement du zinc, mais il peut également être associé au cuivre. Les usines traitant ces minerais pourront contribuer à la dispersion du cadmium par la voie de leurs effluents résiduels (eaux-usées, particules et aérosols de fonderies) et par la commercialisation de produits renfermant cet élément. La production et la consommation mondiale du cadmium sont schématisées dans les figures 9 et 10.

La principale application du cadmium est la galvanoplastie [O.M.S., 1972]. Toutefois, il faut encore citer la stabilisation des peintures vinyliques, les accumulateurs et les soudures [TEWORTE, 1973; 1975]. Le tableau XIV reprend la majeure partie des utilisations actuelles de ses composés.

Figure 9

PRODUCTION MONDIALE DE CADMIUM DE 1900 A 1972

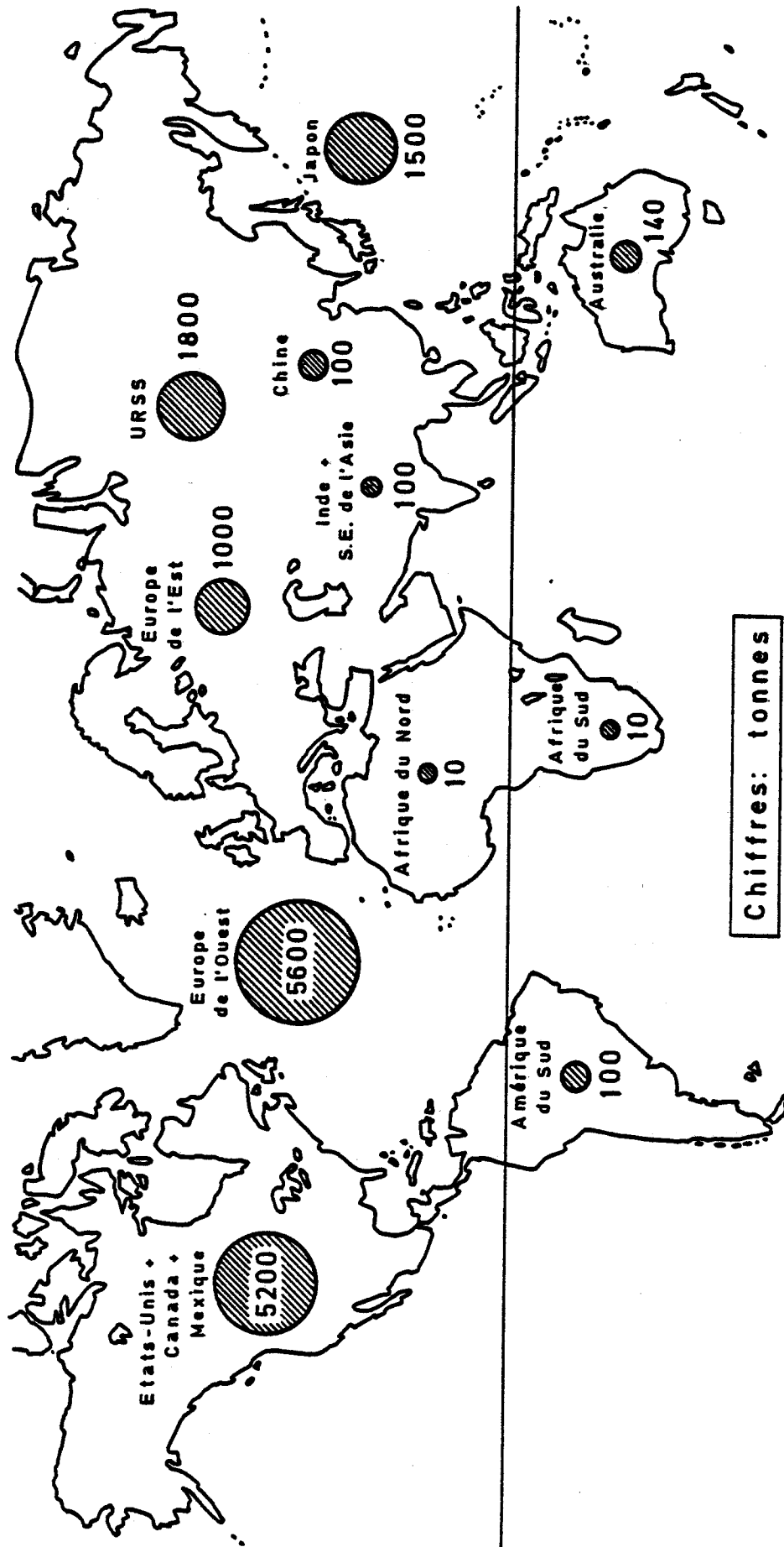


[D'après TEWORTE, 1975]



Figure 10

CONCENTRATION DE LA CONSOMMATION DE CADMIUM DANS L'HEMISPHERE NORD



Consommation mondiale de cadmium en 1971: 15.560 tonnes.
 dont hémisphère nord: 15.400 tonnes (99 %)
 hémisphère sud: 160 tonnes 1 %)

[D'après TEWORTE, 1975]

Tableau XIV

Utilisation des principaux composés du cadmium dans l'industrie

Sel	Utilisation
Acétate	Poteries
Bromure	Photographie, lithographie
Carbonate	Industrie des couleurs
Chlorure	Photographie, teinturerie, imprimerie
Nitrate	Verrerie, porcelaine
Stéarate	Matériaux plastiques
Sulfite	Fabrication du papier, industrie textile, verrerie, céramique

[D'après KLOKE, 1971].

3.3. Mécanismes de dispersion du cadmium

Si la corrosion de la céramique, du polychlorure de vinyle (P.C.V.) ou des teintures constitue une source de pollution par le cadmium, l'essentiel de la contamination est due aux activités industrielles elles-mêmes. C'est ainsi que dans les villes industrielles, l'air contient des concentrations en cadmium beaucoup plus élevées que dans les régions non industrialisées. La concentration en cadmium dans l'atmosphère est d'ailleurs inversement proportionnelle à la distance de l'usine comme cela a été démontré en Suède pour une usine d'alliage cuivre-cadmium et au Japon pour une industrie de zinc [FRIBERG et al.

1971]. La moyenne des concentrations atmosphériques de cadmium dans 35 sites des Etats-Unis était de $0,002 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en 1964, et la valeur maximale enregistrée pour la même période était $0,350 \mu\text{g}/\text{m}^3$ [National air sampling network, 1966]. Aux Etats-Unis, les eaux résiduelles d'origine industrielle, constituent un des facteurs essentiels de la contamination des eaux continentales [QUENTIN, 1972] et par conséquent, des océans [ZAROOGIAN, 1972].

L'utilisation comme matières fertilisantes des boues de décantation provenant des stations d'épuration conduit à la pollution des sols agricoles, les concentrations en cadmium de ces effluents étant souvent très élevées. On estime qu'en Suède, la concentration moyenne en cadmium des eaux d'égout est supérieure à 10 ppm et que, au Danemark les boues résiduelles en contiennent entre 5 et 54 ppm. Les particules métalliques contenues dans les aérosols d'origine industrielle se déposent à proximité des sources d'émission sont aussi à l'origine d'une contamination du sol. En Belgique, les teneurs en cadmium de certains sols proches des industries sont très élevées (tableau XV).

Tableau XV.

Contamination des sols par le cadmium dans des sites industriels ou à proximité de ceux-ci

Type de sol	Teneur
Non contaminé	0-10 mg/kg de sol
Contaminé	9-40 mg/kg de sol 3-336 ppm/matière sèche

[D'après MATHY, 1974].

Enfin, il est nécessaire de signaler la pollution des sols agricoles par les impuretés métalliques contenues dans les engrais et les pesticides utilisés en agriculture. Le cadmium, associé à l'état naturel aux gisements de roches phosphatées est seulement en partie rejeté dans l'atmosphère lors de la fabrication des engrais (banlieue de Rouen). Pour des raisons économiques, les matières fertilisantes ne sont pas épurées de leurs éléments métalliques et on retrouve le cadmium, en proportions extrêmement variables dans les produits de fertilisation (tableau XVI).

Tableau XVI

Teneur en cadmium de roches phosphatées et de matières fertilisantes d'origines diverses

Matière fertilisante	Teneur en cadmium (ppm)
Roche phosphatée	75 - 110
Calcaire	13
Apatite	30
Engrais phosphatés	18 - 91
Superphosphates	38 - 170

[D'après SWAINE, 1962].

Certains pesticides (par exemple contre le virus de la mosaïque du tabac) peuvent contenir du cadmium. Tout comme les produits fertilisants, ces pesticides peuvent ainsi entrer dans l'environnement

naturel en concentrations dangereuses pour la plante, l'animal et l'homme.

3.4. Contamination des organismes terrestres

Dans un système vivant, les métaux lourds, comme tous les autres polluants, s'accumulent dans les tissus des organismes aux différents niveaux trophiques. Ceci est surtout vrai pour le cadmium, dont la période biologique est extrêmement longue (entre 18 et 33 ans). Un certain pourcentage des impuretés cadmiques contenues dans les aérosols industriels peut être retenu par le feuillage des végétaux et absorbé par voie foliaire [BUCHAUER, 1973]. Ces phénomènes d'absorption dépendent de la taille des particules et des espèces végétales. Il semble cependant que la voie de pénétration la plus courante soit la voie radiculaire [HAGHIRI, 1973]. L'expérience a notamment montré que le cadmium présent dans les boues résiduelles était prélevé par le soja, transloqué et accumulé dans la partie aérienne de la plante. Travaillant sur le soja et le froment, HAGHIRI [1973] a montré que les concentrations métalliques des parties aériennes dépendent des doses appliquées. La phytotoxicité métallique se manifesterait déjà, pour les deux espèces, à partir de 2,5 ppm dans le sol. Le tableau XVII indique qu'en Belgique le niveau de contamination des végétaux est élevé.

Tableau XVII

Contamination des végétaux par le cadmium en sites industriels belges ou à proximité de ceux-ci

Plante	Concentration ppm/M.S.
Graminée (conc. normale)	0 - 0,7
Graminée (site industriel)	104
Bouleau	41
Saule	130
Echalotte	6
Plantago major L.	60 - 156
Tussilago farfara L.	113 - 300

[D'après DELCARTE et al., 1973 ; DHAESE, 1974].

Parmi les facteurs qui peuvent influencer la quantité de cadmium que les plantes prélèveront dans le sol, signalons surtout les propriétés physico-chimiques du sol, et notamment le pH et le taux de matières organiques [JOHN, 1972].

3.5. Transfert du cadmium vers l'homme

Selon les experts des Nations Unies l'apport journalier de cadmium d'origine alimentaire varie selon les pays de 50 à 150 µg, mais d'après RAPPE [1973] il pourrait atteindre parfois 300 µg. Cette contamination des produits alimentaires ne peut guère étonner, lorsqu'on sait qu'un grand nombre de plantes et d'animaux intervenant dans l'ali-

mentation humaine absorbent et résorbent le polluant. C'est le cas d'organismes marins tels que les huîtres, le homard ou les coquilles Saint-Jacques [ZAROGIAN, 1972] et de nombreux légumes (tableau XVIII). Une autre source de contamination de la nourriture est due à la corrosion des ustensiles de cuisine et des vernis de poteries par les acides organiques faibles contenus dans les aliments.

Tableau XVIII

Cadmium dans des plantes utiles au voisinage d'une usine de métaux

Plante	Matière fraîche (ppm)	Matière sèche (ppm)
Concombre	0,012	0,38
Tomate	0,015	0,27
Haricot vert	0,019	0,20
Carotte	0,032	0,31
Laitue	0,042	0,82
Chou blanc	0,033	0,48
Pomme	0,009	0,06
Poire	0,013	0,08

[D'après MICHELS et al., 1975].

Dans les pays industrialisés, l'eau de boisson contient en général moins de 1 µg/litre, mais on peut y trouver des concentrations plus élevées, compte tenu de la solubilisation du métal contenu dans les éléments galvanisés des réseaux d'adduction. L'Organisation Mondiale

de la Santé a fixé la concentration limite dans l'eau de boisson à 10 µg/litre, ce qui correspond à un apport maximal de 25 µg par personne et par jour, pour une consommation quotidienne de 2,5 litres par personne [W.H.O., 1971].

La troisième source de contamination de l'homme par le cadmium est constituée par l'inhalation de particules métalliques, dont le taux d'absorption par les poumons se situerait entre 10 et 40 % ; cela représenterait, à l'heure actuelle, une fraction non significative de l'apport global, excepté chez les grands fumeurs, où il serait d'au moins 5 µg par jour [O.M.S., 1972], alors qu'il n'est normalement que de 0,02 et de 0,03 µg à proximité des usines et dans les grandes villes. La concentration maximale admise aux Etats-Unis [A.C.G.I.H., 1973] pour les fumées d'oxyde de cadmium vient d'être réduite à 0,05 mg/m³ et pour les poussières à 0,2 mg/m³. Un résumé de l'apport journalier du cadmium est donné dans le tableau XIX.

Tableau XIX

Ingestion et absorption du cadmium par l'homme

Source	Cadmium ingéré ($\mu\text{g}/\text{jour}$)	Cadmium absorbé (%)	Cadmium absorbé ($\mu\text{g}/\text{jour}$)
Aliments			
Schroeder [1961]	4 - 60		
Schroeder et al. [1967]	200 - 500(?)		
Yamagata [1970]	60		
WHO-OMS [1972]	50 - 150		
Lewis et al. [1972]	30 - 60	5	1,5 - 3,0
Eau			
1 $\mu\text{g}/\text{l}$ WHO-OMS [1972] 2 litres/jour	2,0	5	0,1
Air (zones rurales et urbaines)			
0,001 à 0,03 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ WHO-OMS [1972] USPHS [1966] 16 m^3/jour	0,016 - 0,48	50	0,008-0,24
Air (proximité des usines dégageant du cadmium)			
0,1 à 0,5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ Lewis et al. [1972] 16 m^3/jour	1,6 - 8,0	50	0,8 - 4,0
Cigarettes			
1 $\mu\text{g}/\text{cig.}$ Lewis et al. [1972] WHO-OMS [1972] 20 cig./jour 10 % cadmium dans la fumée inhalée	2,0	50	1,0

[D'après LAUWEREYS et al., 1973]

3.6. Métabolisme du cadmium

Le cadmium n'est pas un métal essentiel à la vie de l'homme. Pratiquement absent à la naissance, il s'accumule dans l'organisme humain pour atteindre une concentration moyenne de 20 à 30 mg aux environs de 50 ans.

Chez l'adulte professionnellement exposé, l'absorption se fait surtout par voie respiratoire et accidentellement par voie digestive. Chez le sujet non exposé de par sa profession, l'excrétion urinaire est généralement inférieure à 2 µg/litre. Chez le travailleur exposé, elle est certes plus élevée mais selon divers auteurs, il n'y aurait pas nécessairement chez chaque sujet une bonne corrélation entre la concentration urinaire en cadmium et l'intensité de l'exposition [FRIBERG, 1959 ; TSUCHIYA, 1967]. Dans l'organisme, le cadmium se lie préférentiellement à une protéine, la métallothionéine, dont il stimule la synthèse [WISNIEWSKA et al., 1971 ; SHAIKH et LUCIS, 1972 ; WEBB, 1972a]. Le cadmium est un toxique cumulatif qui se concentre dans les reins, le foie, le pancréas, la thyroïde, les testicules et les glandes salivaires [FRIBERG, 1959 ; LEWIS et al., 1972 ; SHAIKH et LUCIS, 1972]. La concentration dans la substance corticale du rein, site privilégié de fixation du cadmium ingéré, varie fortement selon les pays. Elle serait, chez des adultes non soumis à des expositions professionnelles, de 30 mg en Suède, 25 à 50 mg aux Etats-Unis, 50 à 100 mg au Japon, par kg d'organe frais [O.M.S., 1972]. En tout état de cause, les lésions rénales apparaîtraient à partir d'une concentration de 200 mg/kg d'organe

frais, lorsque la concentration du toxique dans la substance corticale du rein a déjà atteint un niveau critique. En outre, l'utilisation des isotopes a montré que le cadmium était absorbé, résorbé et distribué dans le tractus intestinal, le foie, le cerveau et le pancréas [PISCATOR et LIND, 1972 ; STARA, 1973]. Absorbé sous forme particulaire, à partir des aérosols, le cadmium peut également atteindre les alvéoles pulmonaires où il intervient dans l'inhibition de divers processus enzymatiques respiratoires. Le métal peut aussi être transmis au fœtus durant la gestation [LUCIS et al., 1972] et par le lait lors de l'allaitement. Enfin, on a remarqué des interactions entre le cadmium et d'autres métaux (cuivre, zinc) dans les mécanismes métaboliques.

L'organisme n'est cependant pas dépourvu de moyens de lutte contre le cadmium. On sait qu'une partie du métal peut être éliminée par les fèces, les urines et les cheveux. On connaît également le mécanisme de séquestration biochimique du toxique au sein des protéines particulières, que l'on retrouve au niveau des reins (cadmium-binding protein) [SHAIKH et LUCIS, 1972].

3.7. Toxicité du cadmium

S'il y a déjà plus d'un siècle que l'on connaît certains effets du cadmium sur l'homme, l'étude de sa toxicité connaît aujourd'hui un regain d'actualité, car sa production et son utilisation n'ont cessé d'augmenter au cours des vingt dernières années.

3.7.1. Intoxication aiguë

L'inhalation modérée de vapeurs de cadmium entraîne une symptomatologie similaire à la fièvre des fondeurs avec guérison en quelques jours.

L'inhalation massive de fumées ou de poussières respirables provoque après 12 à 24 heures de latence des céphalées, des nausées, de la sécheresse de la gorge, suivie de trachéite, bronchite ou bronchopneumonie avec oedème aigu du poumon. L'évolution est fatale dans environ 15 % des cas, 1 à 3 jours après le début de l'exposition [FAIRHALL, 1957]. Le sujet qui survit à une intoxication aiguë ne garde habituellement pas de séquelles pulmonaires. Les intoxications par le cadmium, tout comme celles dues au plomb sont généralement traitées par administration d'agents chélateurs tels que l'E.D.T.A. (Acide éthylène diamine tetra acétique) par voie intraveineuse. Ces métaux chélatés par les atomes d'azotes et d'oxygènes de l'E.D.T.A. sont ensuite excrétés par l'urine [CHISOLM, 1970 ; LAFONTAINE et al., 1977].

Après ingestion accidentelle, on observe essentiellement une symptomatologie digestive : après une latence allant de 15 minutes à 5 heures, le patient développe des nausées, de la sialorrhée, des vomissements sanguinolents, de la diarrhée, des douleurs abdominales et des myalgies. La mort peut survenir par hépatonéphrite [FLICK et al., 1971].

3.7.2. Intoxication chronique

Ce type d'intoxication résulte, la plupart du temps, de l'inhalation de fumées et de poussières de cadmium mais aussi dans certains

cas, de l'ingestion prolongée de boissons et d'aliments contaminés. Une intoxication chronique peut provoquer l'irritation des voies respiratoires supérieures et même une ulcération de la muqueuse nasale [POTTS, 1961], mais ce sont surtout les reins qui paraissent les organes les plus sensibles. Ceci se traduit par l'excrétion de protéines de faible poids moléculaire [FRIBERG, 1948 ; PISCATOR, 1962, AXELSSON et PISCATOR, 1966, PISCATOR, 1966]. Signalons encore qu'une intoxication chronique par le cadmium peut entraîner des lésions pulmonaires [BONNELL, 1955 ; KAZANTZIS, 1956 ; FRIBERG, 1959] et de l'hypertension [BONNELL et al., 1959 ; HUFFMAN, 1973] et que au Japon dans les cas d'intoxication par l'eau servant à l'irrigation des rizières, le symptôme le plus spectaculaire est l'ostéomalacie. Les os des personnes intoxiquées deviennent en effet, par suite d'une déminéralisation accentuée, tellement fragiles que le simple fait de tousser peut entraîner des fractures de ceux-ci [ATHANASSIADIS, 1969].

La potentialité cancérogène du cadmium pour l'homme reste incertaine. KIPLING et WATERHOUSE [1967] ont observé 4 cancers prostatiques parmi 248 ouvriers qui avaient été exposés aux poussières d'oxyde de cadmium alors que l'incidence prévue n'était que de 0,58. Cette association n'a cependant pas été signalé par d'autres auteurs [POTTS, 1961 ; HUMPERDINCK, 1968 ; MALCOLM, 1972]. Divers chercheurs ont toutefois démontré que le cadmium pouvait induire des cancers chez l'animal (sarcomes à l'endroit d'injection et tumeurs testiculaires malignes) [HEATH et al., 1962 ; GUNN et al., 1963 ; KAZANTZIS, 1963 ; HADDOW et al., 1964 ; ROE et al., 1964 ; GUNN et al., 1967].

3.8. Effets tératogéniques du cadmium

Quelque soit le mode d'administration le cadmium est toxique pour les embryons des rongeurs. Chez les hamsters femelles en gestation le cadmium peut entraîner la résorption de 70 % des embryons, moins de 10 % des survivants étant normaux [GALE, 1973]. Chez cette espèce les anomalies de la tête (bec de lièvre, fissure palatine) semblent les plus fréquentes [FERM et CARPENTER, 1967 b]. Le zinc pourrait avoir un effet protecteur vis à vis du cadmium [FERM et CARPENTER, 1967 b ; 1968]. Chez la rate gestante le cadmium accroît également la résorption fœtale et induit des malformations diverses impliquant par exemple le squelette, les reins, le cœur [SCHARPF et al., 1972]. Des effets du même genre sont signalés chez la chèvre [ANKE et al., 1970]. Il est intéressant de noter que les effets d'une intoxication par le cadmium sont, pour l'embryon, tout à fait semblables à ceux dus à une déficience grave au zinc [HURLEY et SWENERTON, 1966] et que nous rapportons dans le paragraphe consacré à ce métal.

Glossaire de termes médicaux

Hépatonéphrite : Affection caractérisée par des lésions simultanées du foie et des reins.

Hydrocéphalie : Accroissement de la quantité de liquide céphalorachidien contenu dans le crâne, entraînant une augmentation de volume du crâne.

Méningocèle : Hernie des enveloppes méningées à travers un orifice pathologique du canal rachidien.

Ostéomalacie : Affection caractérisée par une altération des os, qui peu à peu perdent leurs sels minéraux, deviennent mous, flexibles et se déforment.

Sialorrhée : Augmentation morbide de la sécrétion salivale.

Syndactylie : Fusion de doigts ou d'orteils.

Résumé du Chapitre I

Le zinc, le plomb et le cadmium sont des éléments de haute densité que, pour cette raison, on appelle métaux lourds. Ils sont en général bivalents dans leurs composés et forment des oxydes, des chlorures, des sulfures etc... Des traces de ces métaux lourds sont naturellement présents dans l'écorce terrestre, les roches, l'eau et l'air, mais on les retrouve à une concentration beaucoup plus élevée dans leurs propres minerais, surtout sous forme de sulfures tels que le sphalérite (ZnS), la galène (PbS) et le greenockite (CdS).

Etant donné que le minerai de zinc contient également du plomb et du cadmium, ces derniers constituent des sous-produits de l'industrie de zinc. Au niveau mondial, la production minière et la consommation de ces métaux progresse continuellement. C'est ainsi qu'après le Japon, les Etats-Unis, le Canada, l'Allemagne et l'Australie, la France et la Belgique partagent la sixième place pour le zinc, tandis que pour le cadmium, la Belgique occupe après les Etats-Unis, le Japon et l'Allemagne la quatrième place, suivie par le Canada, l'Australie et la France.

Ces métaux ont de multiples applications dont les principales sont pour le zinc : le recouvrement des toitures, les procédés de zingage, les alliages, la médecine. Le plomb, quant à lui, est utilisé dans les accumulateurs, l'imprimerie, les peintures et les soudures, mais surtout comme antidétonant dans les carburants. Le cadmium, enfin, est employé aussi dans les accumulateurs et les soudures

mais surtout dans les procédés de cadmiage et de galvanoplastie. Les possibilités de dispersion sont donc multiples et dépendent surtout des activités industrielles, du trafic routier et des conditions atmosphériques. Il n'est donc pas du tout étonnant que les êtres vivants puissent être contaminés par ces éléments, le transfert vers l'homme se faisant surtout par voie respiratoire ou digestive.

Le zinc, contrairement au plomb et au cadmium, est indispensable à la vie mais ne s'accumule pas. Un apport journalier de 8 à 15 mg assure une balance positive chez l'homme. L'excrétion se fait surtout par voie gastro-intestinale. Le zinc présent dans le corps constitue le composant actif de plusieurs enzymes et peut également former un complexe avec certaines protéines. Etant donné que le zinc ne s'accumule pas dans l'organisme, les cas d'intoxication par ce métal sont rares et presque toujours temporaires. Lorsque les doses absorbées dépassent 400 mg/jour, on observe des dommages dans le développement des os.

La rétention du plomb ingéré est de 5 à 10 % et celle du plomb inhalé de 35 à 50 %. Quatre-vingt-dix pour cent de ce plomb se fixe dans les os. L'excrétion se fait surtout par voie fécale. La charge corporelle en plomb atteint, chez l'adulte, 100 à 400 mg. L'intoxication par le plomb inorganique (la plus courante) est surtout caractérisée par la présence de coliques, d'anémie, d'encéphalopathie et/ou de paralysie, tandis que le plomb tetra-éthyle est un neurotoxique.

Le taux de cadmium accumulé dans l'organisme peut atteindre 20 à 30 mg après 50 ans. Il peut se lier à une métalloprotéine, et il est excrété surtout par les fèces. L'intoxication aiguë au cadmium, due à l'inhalation de vapeurs, se manifeste par un état fébrile mais peut même être fatale. L'intoxication chronique au cadmium est caractérisée par la coloration des dents, l'irritation des voies respiratoires supérieures, des lésions pulmonaires et rénales, de l'hypertension et de l'ostéomalacie.

Chapitre II

DESCRIPTION DU MATERIEL ETUDIE ET DES METHODES D'OBSERVATION UTILISEES

I. PRELEVEMENTS ET METHODES DE CULTURE DU SANG PERIPHERIQUE DES MAMMIFERES

1.1. Matériel cultivé

La majorité des études réalisées sur les dommages produits aux chromosomes des mammifères, *in vivo* ou *in vitro* par les radiations ionisantes ou les mutagènes chimiques impliquent la culture de sang. Cette méthode est basée sur la propriété qu'ont les petits lymphocytes du sang périphérique, lorsqu'ils sont stimulés, de se transformer en blastes et de se diviser.

Ce système offre plusieurs avantages :

1. C'est un matériel qui est très facile à prélever, même à plusieurs reprises, et qui donne par millilitre de sang un grand nombre (2 à 3×10^6) de petits lymphocytes, circulant dans tous les organes du corps entier.
2. Les petits lymphocytes ne se divisent normalement pas dans le sang périphérique où ils se trouvent au stade G1 de l'interphase. L'acti-

tivité mitotique des petits lymphocytes en culture est alors induite au moyen d'une mucoprotéine végétale, la phytohémagglutinine (P.H.A.) [NOWELL, 1960], qui est un extrait de haricot blanc. Grâce à cette stimulation, il est possible d'obtenir un nombre élevé de mitoses en un temps très court, même à partir d'échantillons de sang complet relativement peu importants.

Le développement, dans le temps, des cellules du sang périphérique en culture, c'est-à-dire, la transformation des petits lymphocytes en blastes jusqu'à la mitose, est représenté par la figure 11.

1.2. Milieu de culture

1.2.1. Composition

Le milieu de base, le Ham's F-10 [HAM, 1963], contient, comme le montre le tableau suivant, différents acides aminés, plusieurs vitamines, sels inorganiques et autres composants.

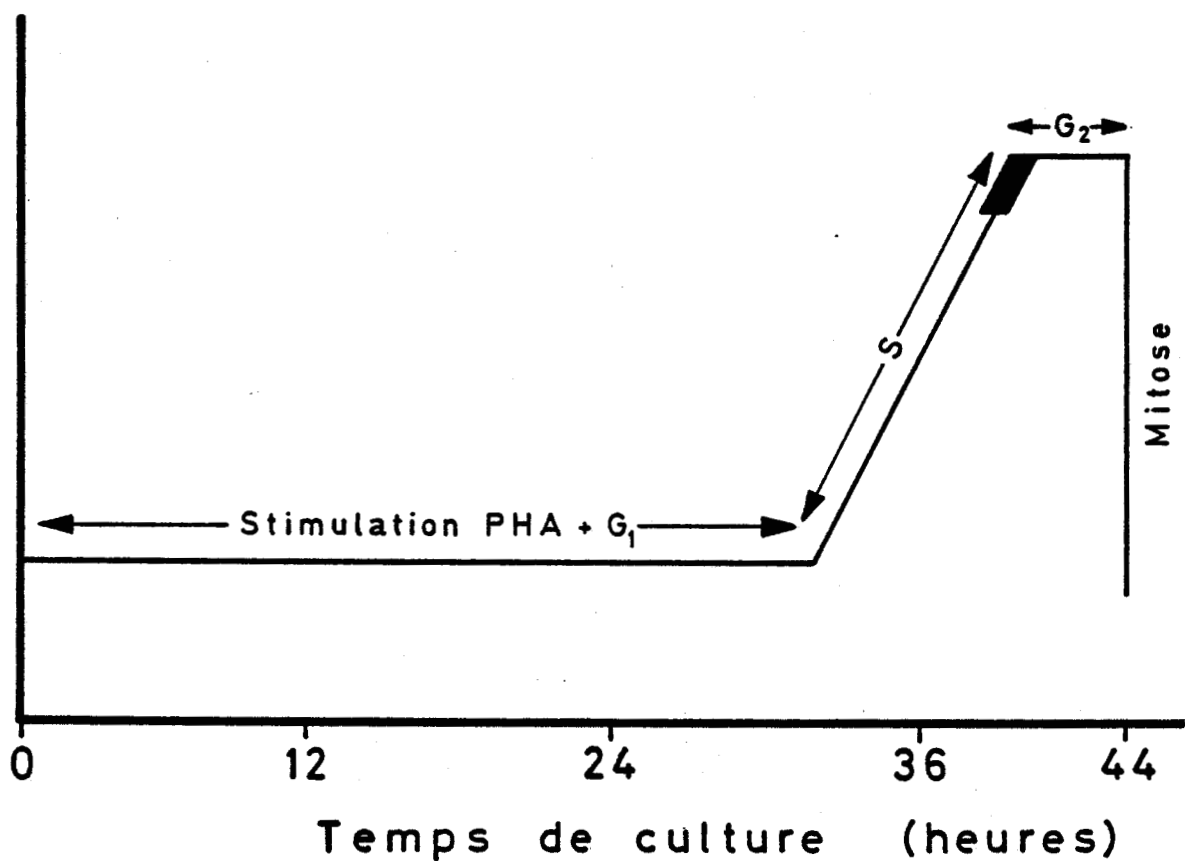
Ce milieu de base doit à ce moment également être complété avec du sérum de veau (Difco), de la phytohémagglutinine (Wellcome) de la benzylpénicilline sodique (Glaxo) et du sulfate de streptomycine (Glaxo).

1.2.2. Préparation

A 100 ml de Ham's, concentré 10 fois, sont ajoutés 895 ml d'eau

Figure 11

DEVELOPPEMENT DES CELLULES SANGUINES
EN CULTURE



G₁ = période initiale de croissance

S = période de synthèse d'ADN

G₂ = phase pré-mitotique

■ = présence de thymidine H³



[D'après BUCKTON et EVANS, 1973]

Tableau XX
Composition du milieu.

Acides aminés	mg/litre	Vitamines	mg/litre
L-alanine	8,91	D-biotine	0,024
L-arginine	211,00	D-pantothénate de calcium	0,715
L-asparagine	15,00	Chlorure de choline	0,698
Acide L-aspartique	13,30	Acide folique	1,320
L-cystéine HCl . H ₂ O	31,50	Inositol	0,541
Acide L-glutamique	14,70	Acide nicotinique	0,615
*L-glutamine	146,20	Pyridoxine HCl	0,206
Glycine	7,51	Riboflavine	0,376
L-histidine HCl . H ₂ O	21,00	Thiamine HCl	1,012
L-isoleucine	2,60	Vitamine B12	1,360
L-leucine	13,10		
L-lysine	29,30		
L-méthionine	4,48		
L-phenylalanine	4,96		
L-proline	11,50		
L-sérine	10,50		
L-thréonine	3,57		
L-tryptophane	0,60		
L-tyrosine	1,81		
L-valine	3,50		
Seils inorganiques	mg/litre	Autres composants	mg/litre
CaCl ₂ . 2H ₂ O	44,10	Hypoxanthine	4,080
CuSO ₄ . 5H ₂ O	2,50	Acide lipoique	0,200
FeSO ₄ . 7H ₂ O	834,00	Rouge phénol	17,000
KCl	285,00	Pyruvate de sodium	110,000
MgSO ₄ . 7H ₂ O	152,80	Thymidine	0,727
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	28,80		
NaCl	7400,00		
KH ₂ PO ₄	83,00		
Na ₂ HPO ₄	153,57		
NaHCO ₃	1200,00		

*Vu son instabilité en solution à des températures supérieures à - 10° C, la L-glutamine doit être ajoutée juste avant l'utilisation.



tridistillée (Difco) ainsi que 5 ml de L-glutamine. Le pH est ajusté à 7,2 - 7,4 avec du NaOH (1N) et la solution est stabilisée par addition de 1,2 g de NaHCO_3 .

A 800 ml de ce mélange sont alors ajoutés :

100 ml de sérum de veau (Difco)

12,5 ml de phytohémmagglutinine (Wellcome)

4,0 ml de benzylpénicilline (Glaxo)

0,5 ml de streptomycine (Glaxo).

1.2.3. Stérilisation

1. Matériel utilisé

Pour cultiver des cellules ou des tissus, il est indispensable de disposer d'un milieu stérile. Etant donné que beaucoup de composants des milieux de culture sont thermolabiles le seul moyen est la filtration. Cette dernière est rendue difficile du fait que certains composants des milieux de culture sont visqueux et peuvent boucher assez vite les pores des filtres. Pour éviter la dénaturation des protéines on utilise un système sous pression.

2. Système de filtration

α. Pour ces diverses raisons, nous avons adopté le système Millipore :

- un filtre Millipore n'a pratiquement aucune limite de pression d'utilisation et la stérilité n'est jamais modifiée par des varia-

tions de pression ;

- ces filtres ne provoquent aucune adsorption et sont biologiquement et chimiquement inertes ;
- étant donné les dimensions précises des pores de ce type de filtre il est possible par un choix approprié de leurs dimensions d'éliminer tout danger de contamination.

β. Pour la filtration sous pression on utilise de préférence à l'air, un gaz inerte tel que l'azote. En effet, lorsque l'air est comprimé il contient toujours des vapeurs d'huile de lubrification qui peuvent affecter les caractéristiques des milieux et le développement des cellules.

γ. Les tuyaux de raccord utilisés doivent être neutres, non toxiques et résister à l'autoclavage. En règle générale, il faut utiliser seulement des tuyaux en caoutchouc ou en gomme pure.

3. Mode d'emploi

Un support-filtre Swinnex-47 en polypropylène autoclavable est chargé en empilant une série de filtres Millipore de façon à ce que le sérum passe successivement par un préfiltre en fibre de verre (AP25), un filtre de 1,2 μ (RAWP), un filtre de 0,45 μ (HAWP) et enfin un filtre de 0,22 μ (GSWP). Chaque filtre est séparé du suivant par une double feuille de Dracon (AP32) qui augmente la durée du filtre. Il n'est pas utilisé de feuille de Dracon sous le préfiltre, mais par contre on en dispose entre le dernier filtre GS et la grille support,

de façon à augmenter les quantités passées avant colmatage.

Les filtres, les séparateurs, l'appareil et les tuyaux doivent être secs avant l'autoclavage qui est effectué comme suit :

- le support-filtre chargé est enveloppé dans du papier Kraft et autoclavé à 120 °C pendant 15 minutes ;
- après refroidissement à la température ambiante, il est relié au récipient sous pression contenant déjà le milieu et au flacon de réception stérilisé ;
- la source d'azote est raccordée à l'entrée du récipient sous pression et la filtration est effectuée sous une pression de 1,5 à 3 bars ;
- le milieu ainsi préparé peut être conservé à 5 °C pendant un mois au maximum.

1.3. Procédé de culture du sang périphérique

1.3.1. *Prélèvement du sang*

De chaque personne, maintenue à jeun depuis quatre heures au moins, on prélève en général une dizaine de ml de sang. Pour éviter tout danger d'infection, l'avant bras est désinfecté soigneusement à l'alcool éthylique à 70 %. L'échantillon de sang est transféré immédiatement dans un tube stérile en matière plastique contenant de l'héparine (Stayne) et est mélangé avec précaution de façon à éviter la formation de caillot sans cependant dénaturer les protéines. Nous avons utilisé la même technique pour nos études sur les singes.

1.3.2. Mise en culture

La quantité de sang total à inoculer dépend du nombre de lymphocytes par mm^3 de sang. Pour chaque personne on procède à une numération des différents types de globules blancs. On ajoute ensuite l'équivalent de sang contenant environ 1×10^6 lymphocytes à 5 ml de milieu de culture contenu dans un tube UGB de 15 ml. Ces opérations se font évidemment aseptiquement dans une hotte stérilisante.

1.3.3. Durée de la culture

Les travaux de HEDDLE et al., [1967] et de BENDER et BREWEN [1969] ont montré que le nombre (Figure 12) et les types (Figure 13) d'anomalies observées dans les lymphocytes humains sont fonction de la durée de la culture.

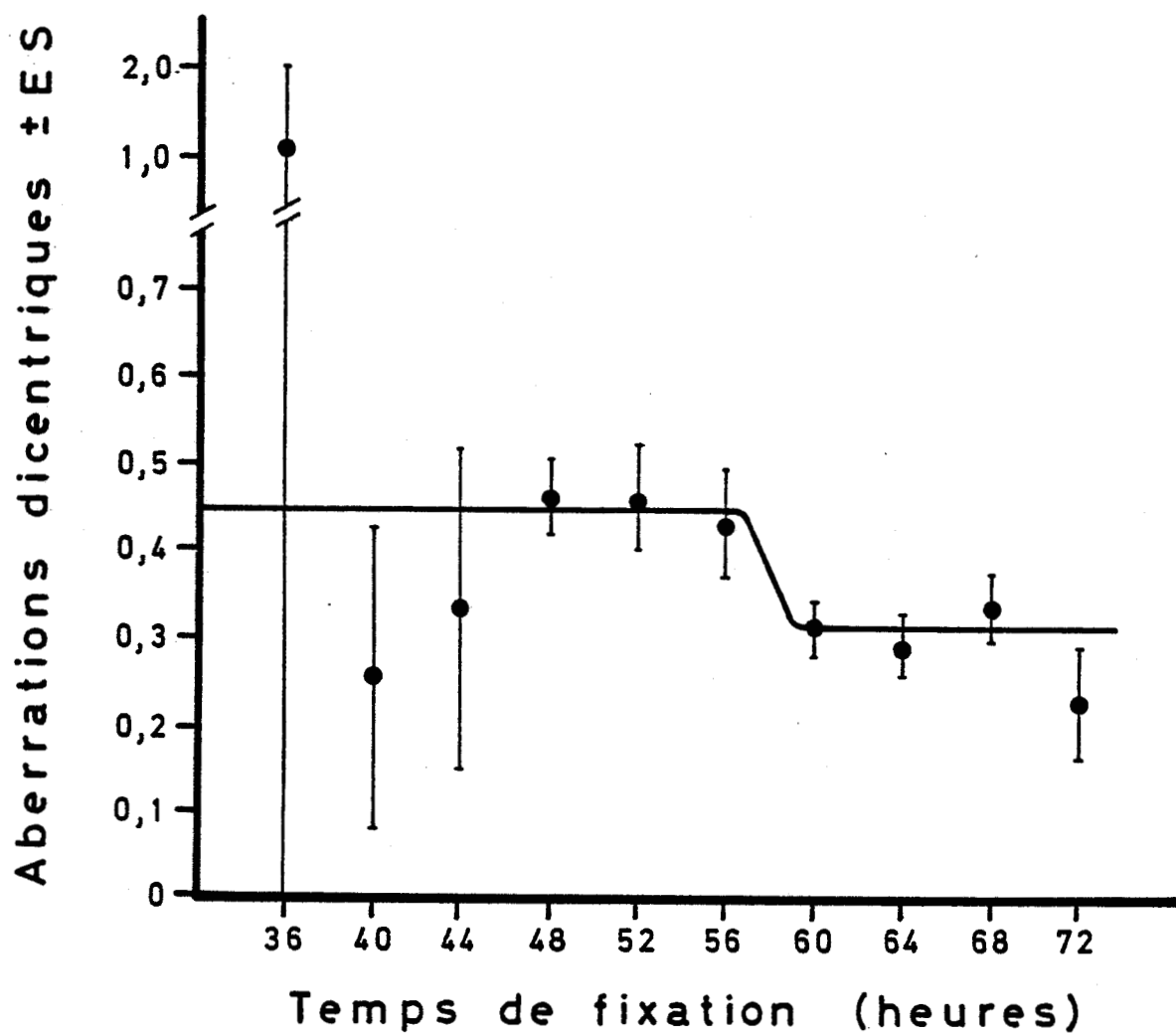
Certaines anomalies, dites instables peuvent en effet être éliminées par suite de difficultés mécaniques interférant avec le processus normal de la mitose. Le temps de culture (48 h) que nous avons adopté permet d'obtenir une majorité de cellules en première division.

1.3.4. Incubation et arrêt de la culture

Après l'inoculation, la culture est mise dans un bain-marie et incubée, en position verticale, à $37 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ pendant 48 heures. Un millilitre de solution d'arrêt (Difco) est ajouté à chaque culture après 45 1/2 h de culture. La solution d'arrêt, contenant environ 2 μg de colchicine par ml, perturbe la formation du fuseau et bloque ainsi les mitoses en métaphase.

Figure 12

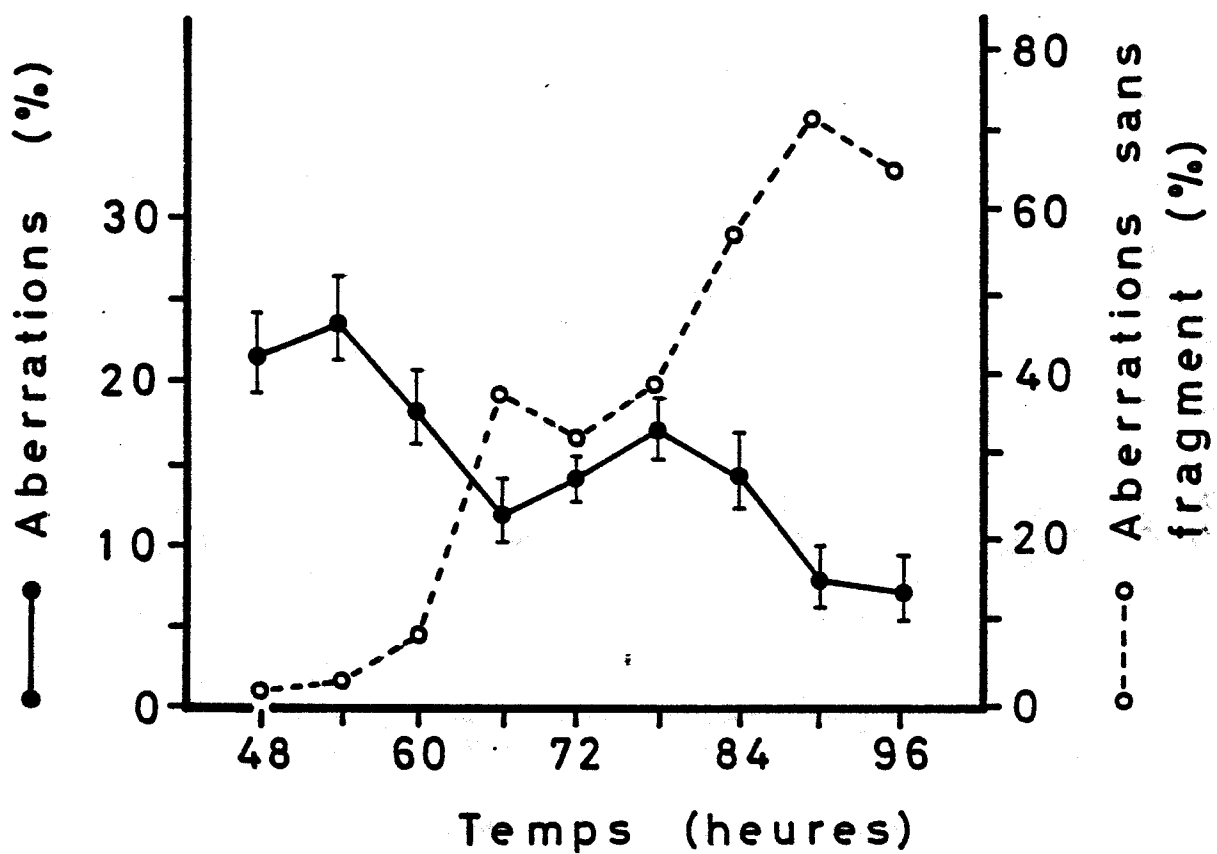
FREQUENCE DES ABERRATIONS CHROMOSOMIQUES
APRES IRRADIATION
EN FONCTION DU TEMPS DE CULTURE



[D'après HEDDLE, EVANS et SCOTT, 1967]

Figure 13

VARIATION OBSERVEE DANS
LA FREQUENCE DES ABERRATIONS
DEUX JOURS APRES L'IRRADIATION



[D'après BENDER et BREWEN, 1969]



1.3.5. Préparation des lames microscopiques

1. Choc hypotonique

La culture est transvasée dans un tube conique gradué de 12 ml et centrifugée à 2500 tours pendant 5 minutes. On décante le surnageant et on y ajoute, en mélangeant, 8 ml de solution hypotonique (0,075 M de chlorure de potassium). On laisse reposer le tube pendant 8 minutes à la température ambiante avant de le centrifuger comme précédemment et on élimine le surnageant.

2. Fixation

Les cellules sont remises en suspension et du fixateur (méthanol-acide acétique 3 : 1) fraîchement préparé y est ajouté goutte à goutte de façon à obtenir un volume final d'environ 1 ml, qui est ensuite amené rapidement à un volume de 7 ml. Après centrifugation, le fixateur est renouvelé 3 fois avant de faire la suspension finale. Une goutte de cette suspension est déposée et mise à sécher sur une lame parfaitement nettoyée. L'étalement des métaphases dépend du rinçage des lames mais aussi de l'humidité ambiante. Les meilleures préparations sont obtenues lorsque l'humidité relative est comprise entre 45 et 65 %. Lorsque l'humidité relative descend en dessous de 45 %, il faut utiliser des lames refroidies au réfrigérateur et lorsqu'elle monte au dessus de 65 % il est recommandé d'humidifier les lames afin d'obtenir un bon étalement.

3. Coloration et montage des préparations

Les préparations sont placées verticalement pendant une nuit dans un bac de coloration contenant 1 % d'orcéine lactique. Le surplus de colorant est enlevé dans un bain d'acide acétique à 45 %. Les préparations sont alors déshydratées dans 3 bains successifs de "cellosolve" suivis de trois bains d'essence d'Euparal et montées à l'aide d'un baume (Euparal) qu'on laisse polymériser sur une plaque chauffante à 60 °C pendant un minimum de 24 heures. A ce moment le surplus de baume est enlevé au chloroforme.

La coloration à l'orcéine lactique est intéressante parce que ce colorant présente une grande affinité pour les satellites des chromosomes. De plus, on peut facilement enlever le surplus de colorant en passant les préparations dans un bain d'acide acétique dilué (45 %). On obtient ainsi une préparation avec un fond parfaitement incolore et les contours des chromosomes sont alors nettement délimités.

L'orcéine lactique est préparée en ajoutant 1 g % d'orcéine à un mélange préchauffé jusqu'à 80 °C, d'une partie d'acide lactique à 70 % et d'une partie d'acide acétique glacial. Le colorant filtré après refroidissement peut se conserver un mois au réfrigérateur à 5 °C.

2. PRELEVEMENT DE LA MOELLE OSSEUSE ET PREPARATION DES CHROMOSOMES CHEZ LA SOURIS

2.1. Prélèvement de la moelle osseuse

Une heure avant le sacrifice, la souris reçoit, en injection intrapéritonéale, 0,5 ml de colchicine (Merck p.a.) à une concentration de 0,025 g %. L'animal est ensuite sacrifié par dislocation des vertèbres cervicales et les deux fémurs sont enlevés. Après avoir coupé les épiphyses, la moelle est expulsée et mise en suspension avec une seringue contenant 3 ml d'une solution, à 2,2 %, de citrate de sodium (Merck p.a.).

2.2. Préparation des chromosomes

La suspension fine, ainsi obtenue, est centrifugée à 500 tours/min pendant 5 minutes, le surnageant est éliminé et les cellules du culot sont remises en suspension et soumises à un choc hypotonique (citrate de sodium à 1 g %). Après un repos de 12 minutes, on procède à une nouvelle centrifugation et on fixe le culot, sans l'avoir perturbé, au moyen d'un mélange de trois parties d'alcool éthylique et d'une partie d'acide acétique glacial. Après 5 minutes le fixateur est renouvelé une première fois en veillant à ne pas remuer les cellules, celles-ci étant mises en suspension lors du second renouvellement. Après un repos de 10 minutes, suivi d'une centrifugation, une suspension finale très diluée est préparée.

2.3. Préparation des lames

Quelques gouttes de ce mélange sont déposées sur une lame dégraissée. Les préparations sont ensuite colorées à l'orcéine lactique et montées comme celles des chromosomes humains.

3. METHODE D'ANALYSE ET TYPES D'ANOMALIES CHROMOSOMIQUES OBSERVEES

3.1. Méthode d'analyse des lames

Pour l'étude de nos préparations nous avons adopté une méthode standardisée. Chaque métaphase est d'abord examinée en utilisant un objectif 40 x de façon à éliminer les cellules incomplètes ou imparfaitement étalées. Les cellules retenues sont ensuite soigneusement analysées au moyen d'un objectif 100 x. Tous les cas litigieux sont soumis à l'appréciation d'un second examinateur. Deux cents cellules au minimum sont analysées pour chaque individu.

3.2. Relation entre le cycle cellulaire et les types d'anomalies de structure

Le cycle cellulaire se subdivise [HOWARD et PELC, 1953] en une phase de présynthèse (G1), en une phase de synthèse (S) de l'acide désoxyribonucléique, en une phase postsynthétique (G2), qui elle même précède la mitose proprement dit (M). La mitose ne dure jamais plus d'une à deux heures tandis que la phase G1 peut être très longue et, dans le cas des

lymphocytes du sang périphérique, de durée infinie. On parlera dans ce cas de phase G0 [LAJTHA, 1963]. Le type d'aberration est fonction du moment auquel interviennent les lésions chromosomiques (Figure 14) : l'exposition à un agent mutagène durant la phase G1 produira surtout des anomalies de type chromosomique tandis que si elle a lieu durant les phases S ou G2 elle provoquera surtout des anomalies de type chromatidique.

3.3. Description des types d'aberrations

3.3.1. *Aberrations de type chromosomique*

Ce sont les aberrations de ce type, c'est-à-dire, celles dans lesquelles la rupture ou l'échange porte sur le même locus des deux chromatides d'un chromosome, qui ont été les plus fréquemment étudiées dans les cellules somatiques. Lorsque l'anomalie intéresse un seul chromosome on parle d'anomalie intrachromosomique, lorsqu'elle implique plusieurs chromosomes on parle d'anomalie interchromosomique.

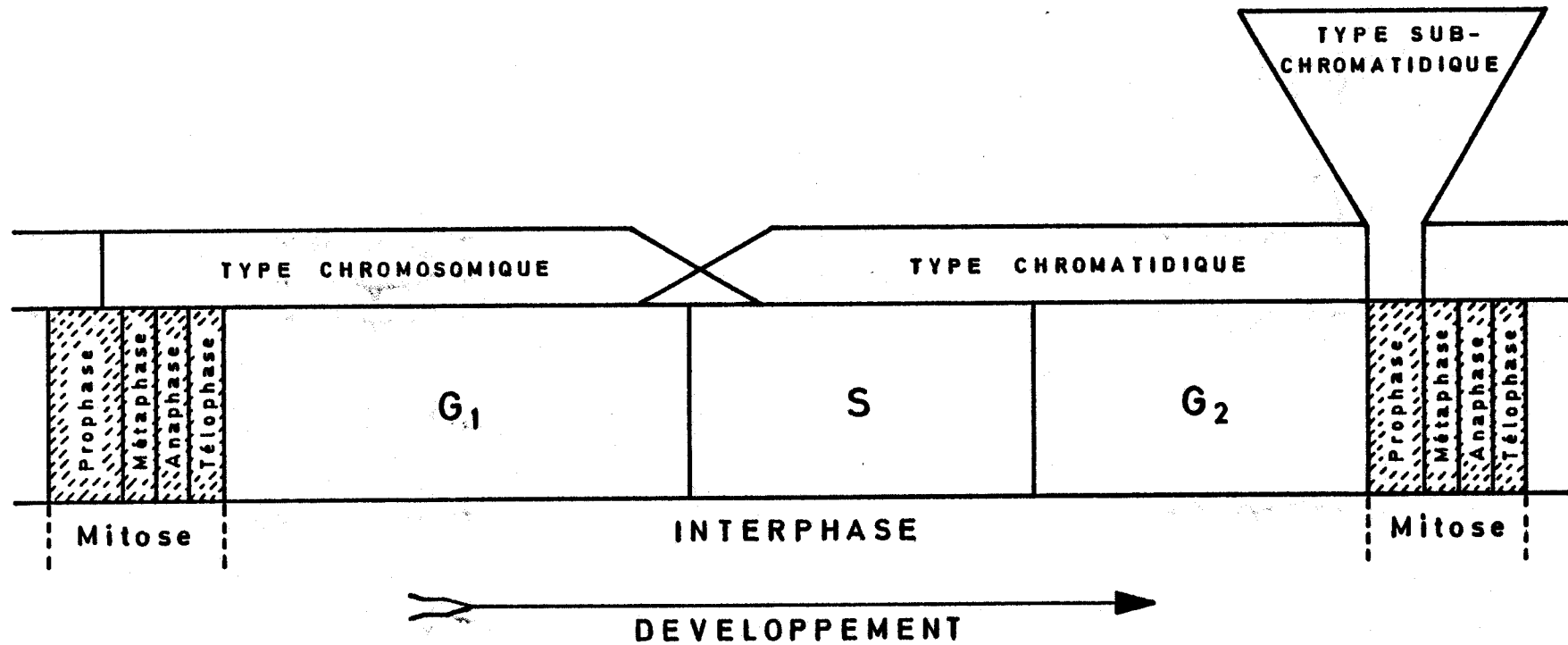
Les sept catégories d'aberrations chromosomiques (Figure 15) peuvent être définies comme suit :

1. Délétions terminales

Ce sont des fragments acentriques disposés par paire et qui semblent résulter d'une simple cassure transversale du chromosome. Elles ne sont pas accompagnées d'aberrations en anneau ou d'échanges entre chromosomes.

Figure 14

RELATION ENTRE LE TYPE D'ABBERRATION ET LE STADE DU CYCLE
CELLULAIRE AU MOMENT DE L'ACTION DE L'AGENT MUTAGENE



RIS
CITE

[D'après BUCKTON et EVANS, 1973]

Figure 15

ABERRATIONS DE TYPE CHROMOSOMIQUE

REMANIEMENTS	CHROMOSOME NORMAL	DELETION TERMINALE	DELETION INTERSTITIELLE	ANNEAU ACENTRIQUE	ANNEAU CENTRIQUE + FRAGMENT	INVERSION PERICENTRIQUE
INTRA-CHROMOSOMIQUE						
INTER-CHROMOSOMIQUE		ECHANGE RECIPROQUE 		DICENTRIQUE + FRAGMENT 		

[Adapté d'après BUCKTON et EVANS, 1973]



2. Chromosomes "minute" (délétions "interstitielles, isodiamétriques ou ponctuelles")

Il s'agit de paires de fragments acentriques, plus petits que les délétions, et présentant la forme caractéristique de sphères de chromatine disposées par paire, d'où leur nom de délétions "ponctuelles" ou "isodiamétriques". Ce sont des délétions, non pas terminales, mais intercalaires et elles résultent de deux cassures transversales, très voisines, du chromosome.

3. Anneaux acentriques

Ils résultent de deux cassures transversales et d'un échange à l'intérieur du chromosome. La distance linéaire entre les deux points de rupture est nettement plus grande que lors de la formation de chromosomes "minute", de sorte que les deux fragments détachés sont plus grands et ont une forme annulaire. La distinction entre chromosome "minute" et chromosome en anneau est très souvent arbitraire puisqu'elle repose simplement sur la dimension du fragment chromosomique interstitiel qui est détaché.

4. Anneaux centriques

Ce sont des chromosomes en anneau résultant d'un échange entre deux cassures transversales du chromosome, qui se produisent de chaque côté du centromère. L'anneau centrique se distingue nettement de l'aberration acentrique et s'accompagne d'un fragment acentrique, rarement de deux.

5. Inversions péricentriques

Elles résultent de deux cassures, de part et d'autre du centromère, suivies de l'inversion du segment contenant le centromère et de sa réincorporation dans le chromosome. Si les deux cassures ou points d'échange, ne sont pas situées à égale distance du centromère, l'inversion péricentrique s'accompagne d'un décalage de la position du centromère dans le chromosome. Mais si, comme c'est probablement le cas le plus fréquent, les points d'échange sont à peu près équidistants du centromère, l'inversion n'est pas visible dans les cellules mitotiques colorées normalement mais elle peut-être détectée par les nouvelles techniques des bandes fluorescentes ou au Giemsa modifié ; d'autre part on a pu la déceler à la méiose après l'appariement des chromosomes. Les inversions paracentriques dans lesquelles les deux points d'échange sont situés du même côté du centromère, ne sont normalement pas décelables cytologiquement dans les cellules en activité mitotique si on n'utilise pas les techniques du "banding".

Dans les aberrations du type 2 à 5, l'échange est parfois incomplet, c'est-à-dire, que seulement deux sur quatre des extrémités libres qui interviennent dans l'échange se resoudent en fait. Ainsi, une inversion paracentrique incomplète sera recensée comme une délétion terminale et un chromosome en anneau pourra être accompagné de deux fragments acentriques au lieu d'un.

6. Echanges interchromosomiques symétriques (translocations réciproques)

Ces aberrations par échange résultent d'une cassure dans deux chromosomes, suivie d'un recollement aberrant dans lequel les régions distales des deux chromosomes sont transférées (transloquées) de l'un à l'autre. Ces aberrations sont dites symétriques car elles ne donnent pas naissance à une structure dicentrique. Parfois, lorsqu'il s'agit d'un échange incomplet, il peut se former un fragment acentrique. Si l'échange est équilibré, c'est-à-dire, si une quantité égale de chromatine est transloquée d'un chromosome à l'autre, l'échange ne se verra pas dans les cellules somatiques (sauf si on fait appel aux techniques du "banding" ou s'il est incomplet auquel cas il apparaîtra comme une simple délétion terminale). Les échanges interchromosomiques portant sur des bras entiers dans la région des centromères intéressés sont parfois appelés "fusions centriques".

7. Echanges interchromosomiques asymétriques (aberrations dicentriques ou polycentriques plus complexes)

Ces aberrations par échange proviennent d'une cassure dans deux ou plusieurs chromosomes, suivie par un recollement aberrant dans lequel les régions proximales des chromosomes se réunissent, formant ainsi une structure dicentrique (polycentrique) accompagnée d'un fragment (rarement deux, uniquement, lorsque l'échange est incomplet). Il convient toutefois de souligner que le fragment associé à une aberration par échange telle qu'un anneau centrique ou dicentrique fait partie

de l'aberration et n'est pas recensé comme un fragment distinct, c'est-à-dire, comme une délétion terminale. On sait qu'il est difficile de déceler certaines formes d'inversions péricentriques (échanges intrachromosomiques d'un bras à l'autre) et d'échanges interchromosomiques symétriques dans les cellules somatiques ; on ne peut donc recenser avec une égale efficacité les sept types d'aberrations chromosomiques considérés. En pratique on rencontre le plus souvent cinq types d'aberrations chromosomiques qu'on classe en : délétions terminales, chromosomes minutes, anneaux acentriques, anneaux centriques et dicentriques (polycentriques).

Des considérations d'ordre théorique indiquent que les inversions péricentriques n'entraînant pas de modification de la longueur relative des bras d'un chromosome doivent constituer une proportion importante du total des aberrations de ce type. En effet, en raison de la disposition en V des chromosomes après l'anaphase ou de leurs mouvements réduits pendant l'interphase, la probabilité d'échange est beaucoup plus forte entre des points d'équidistants du centromère qu'entre des points situés à des distances différentes. De même, dans le cas d'abberations par échange interchromosomique symétrique il doit se produire très souvent des échanges entre des points (cassures) équidistants des centromères des deux chromosomes. Si le caryotype comprend un certain nombre de chromosomes ayant des bras de longueur égale ou à peu près égale (comme c'est le cas dans le caryotype humain), il arrive donc souvent qu'un échange symétrique ne modifie pas la morphologie des chromosomes échangés, l'aberration passant ainsi inaperçue.

Cette méthode de recensement est la plus fréquemment utilisée. Elle est indépendante de toute hypothèse quant au mécanisme de formation de telle ou telle aberration et n'implique pas qu'on doive ranger dans le même groupe, des aberrations qui, tout en étant des structures différentes, peuvent avoir des effets mécaniques analogues lors de la mitose.

3.3.2. Aberrations de type chromatidique







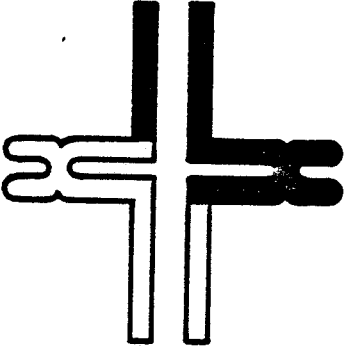
Les aberrations de type chromatidique, représentées en figure 16, peuvent être induites dans les cellules irradiées à l'interphase, ainsi que nous l'avons vu, au stade de la synthèse de l'ADN (S) ainsi qu'au stade postérieur à cette synthèse (G2) [HOWARD et PELC, 1953 ; MOORHEAD et al. 1960 ; LAJTHA, 1963].

Les aberrations de type chromatidique peuvent aussi se produire spontanément ou être induites facilement en exposant des cellules *in vivo* et *in vitro* à des mutagènes chimiques très divers tels que les agents alkylants, les hydrocarbures cancérigènes [BRÖOKES et LAWLEY, 1964] l'ypérite azotée [COHEN et LANSKY, 1961 ; ELVES et al., 1963 ; MOORE et al., 1964 ; NASJLETI et al., 1965 ; NASJLETI et SPENCER, 1966]. Certains virus : entre autres ceux de la varicelle [AULA, 1963] de la rougeole [NICHOLS et al., 1962 ; 1965 ; NICHOLS, 1966] de la fièvre jaune [HARNDEN, 1964] et de l'hépatite infectieuse [MATSANIOTIS et al., 1966] provoquent aussi des modifications structurales de type chromatidique lors de la première mitose qui suit l'exposition. Les aberrations



Figure 16

ABERRATIONS DE TYPE CHROMATIDIQUE

CHROMOSOME NORMAL	LACUNES		CASSURE CHROMATIDIQUE
	CHROMATIDIQUE	ISOCHROMATIDIQUE	
			
CHROMOSOMES NORMAUX		ECHANGE CHROMATIDIQUE	
			

[Adapté d'après BUCKTON et EVANS, 1973]

produites par ces agents résultent probablement d'une erreur de répliation [EVANS et SCOTT, 1964] ; elles sont toutes essentiellement semblables et peuvent être classées en deux catégories principales.

1. Lacunes

Les cultures, après une exposition à des agents mutagéniques, peuvent contenir, dans la première mitose qui suit, des lésions achromatiques qu'on désigne d'ordinaire sous le nom de lacunes.

Ces lacunes ne sont pas des ruptures transversales du filament chromatidique, mais tout simplement des régions non colorées affectant une seule chromatide (lacune chromatidique) ou les deux chromatides (lacune isochromatidique [REVELL, 1959 ; EVANS, 1963]. Ces lacunes sont des lésions réparables qui ne provoquent pas de modifications structurales permanentes du chromosome [EVANS, 1967 ; SCOTT et EVANS, 1967].

D'après l'étude de l'ultrastructure du chromosome en microscopie électronique, il n'est pas exclu que les lacunes rencontrées dans les cellules de sang périphérique en culture et qui varient en nombre suivant les préparations soient pour la plupart des artéfacts techniques [SCHEID et TRAUT, 1971 ; MOURIQUAND et al., 1972].

2. Cassures des chromatides

Au stade S ou G2 de l'interphase où le chromosome s'est scindé en deux chromatides ; il est possible d'y provoquer des cassures ou des échanges. Il convient de souligner également que lorsqu'on a

observé des rendements relativement élevés en aberrations chromatidiques "spontanées", on a relevé très peu d'aberrations par échange, presque toutes étant de simples délétions [LUBS et SAMMELSON, 1967].

3.3.3. *Aberrations de type subchromatidique*

Les aberrations subchromatidiques sont des échanges à l'intérieur d'un même chromosome ou entre chromosomes qui semblent porter sur une sous-unité de chromatide [EVANS, 1962]. Elles peuvent être observées après une exposition à des agents chimiques, à la lumière ultraviolette et aux rayonnements ionisants [EVANS, 1962 ; KIHLMAN, 1966 ; RIEGER et MICHAELIS, 1967] mais seulement dans les cellules exposées au début de la prophase de la mitose ou de la méiose.

Il n'en sera pas question ici, en raison de la rareté relative de ce type d'aberration et de l'impossibilité de l'obtenir en traitant des leucocytes du sang périphérique sans les stimuler, (ces cellules se trouvant au début du stade G1).

3.3.4. *Classification plus générale*

BUCKTON et al. [1962; 1964 a; b; 1967] ont proposé de classer les cellules en trois catégories :

1. Cellules de type A. Cellules ne présentant aucune anomalie chromosomique structurelle. On peut y distinguer les "cellules A modales", diploïdes normales et les "cellules A non modales" qui sont

aneuploïdes.

2. Cellules de type B. Ces cellules contiennent des aberrations de type chromatidique de toute catégorie.

3. Cellules de type C. Cellules contenant des aberrations de type chromosomique. Les cellules "Ci" sont celles qui contiennent des aberrations asymétriques ou des aberrations symétriques incomplètes, c'est-à-dire, des structures dicentriques (polycentriques), des chromosomes en anneau ou des fragments de chromosomes. Le suffixe "i" indique que la cellule contient une aberration instable qui provoquera des difficultés mécaniques lors de la mitose ou entraînera une perte de matériel chromosomique sous la forme d'un fragment acentrique. Les cellules "Cs" contiennent des aberrations stables, c'est-à-dire, des aberrations symétriques complètes (interchanges symétriques ou inversions péricentriques) qui ne sont décelables avec des techniques habituelles, que si les phénomènes d'échange provoquent une modification de la position du centromère ou de la longueur des chromosomes qui subissent le réarrangement. Comme on l'a déjà signalé, en utilisant des techniques classiques de coloration on ne peut recenser qu'une très petite partie des cellules "Cs" alors que certains types de cellules "Ci" (par exemple celles qui contiennent de petites délétions terminales ou intercalaires) peuvent être recensées avec certitude dès la première mitose. Il est important de noter que leurs descendants, qui sont viables, risquent d'être recensés comme des cellules A normales ou comme des cellules "Cs" à partir de la deuxième mitose. La classification en cellules stables et en cellules instables

peut être commode pour avoir un système simplifié, en particulier lorsqu'on envisage le devenir des cellules porteuses d'aberrations pendant une longue période après l'exposition à un agent mutagène. Il est cependant indiscutable qu'on ne peut obtenir le maximum d'information que si les aberrations sont classées d'après les particularités de leur structure.

3.3.5. Anomalies numériques

1. Aneuploidie

Chez les sujet diploïdes normaux on peut de temps à autre observer des cellules dans lesquelles manque un chromosome (cellules hypodiploïdes) et d'autres beaucoup plus rares qui contiennent un chromosome surnuméraire (cellules hyperdiploïdes). L'aneuploidie est un phénomène naturel dans les leucocytes du sang périphérique de sujets diploïdes normaux et sa fréquence peut-être en rapport avec l'âge et le sexe du sujet. En effet des études cytogénétiques de populations humaines [JACOBS et al., 1961 ; 1963 ; HAMERTON et al., 1965 ; COURT BROWN et al., 1967 ; MOURIQUAND et al., 1967] ont montré que l'aneuploidie était un peu plus fréquente dans les leucocytes de la circulation périphérique chez la femme que chez l'homme. Chez la femme, cette aneuploidie provient surtout de la perte d'un chromosome X, probablement celui qui est inactif, alors que chez l'homme, elle est due surtout à la perte du chromosome Y. Chez l'homme, l'augmentation avec l'âge n'apparaît nettement que vers 65 ans, tandis qu'elle semble se manifes-

ter dix ans plus tôt chez la femme.

2. Polyploïdie

De nombreux chercheurs ont noté que l'irradiation "*in vivo*" [TOUGH et al., 1960 ; BUCKTON et al., 1962 ; LINDGREN ET NORRYD, 1962 ; MILLARD, 1965 ; FICHER et al., 1966] ou "*in vitro*" [OHNUKI et al., 1961; BELL et BAKER, 1962 ; WALD et al., 1967] pouvait provoquer une fréquence accrue de la polyploïdie dans les leucocytes du sang périphérique. On a constaté [BUCKTON et PIKE, 1964 a ; b ; ISHIHARA et KUMATORI, 1966] qu'une très forte proportion des cellules polyploïdes contient des aberrations (dicentriques et anneaux centriques) par paires. Il ressort de ces considérations que l'essentiel de la polyploïdie observée est nécessairement fonction de difficultés mécaniques liées à la présence d'aberrations asymétriques dans les cellules auxquelles on laisse subir un certain nombre de divisions au cours de la culture. En effet des travaux plus récents ont montré qu'on n'observe qu'un petit nombre de cellules polyploïdes ou même, bien souvent, aucune cellule de ce type, à la suite d'une irradiation *in vivo* [BUCKTON et PIKE, 1964a ; b ; ISHIHARA et KUMATORI, 1966] ou *in vitro* [HEDDLE et al., 1967] si les cellules ne sont cultivées que pendant 48 à 54 heures. Il convient cependant de signaler que l'on n'a jamais observé une augmentation du taux de cellules polyploïdes due à une exposition à des mutagènes chimiques.

3. Endoréduplication

On a parfois observé dans des cultures de lymphocytes soumis à l'action d'un agent mutagène des cellules contenant des chromosomes qui avaient subi une endoréduplication [OHNUKI et POMERAT, 1961 ; BELL et BAKER, 1962 ; BELL, 1964]. Comme dans le cas de la polyploidie, on trouve parfois de telles cellules dans des cultures de leucocytes non traités, et il se peut que le processus soit facilité par l'exposition des cellules à certains inhibiteurs des fuseaux achromatiques comme la colcémide. Il est évident que ce phénomène exige au moins deux cycles de replication chromosomique en culture et ne peut donc être observé que rarement dans les leucocytes cultivés pendant quarante-huit heures, mais augmente de fréquence avec la durée de la culture [BELL et BAKER, 1962].

3.3.6. Illustrations des anomalies d'écrites

Les figures 17 à 36 illustrent l'aspect des chromosomes normaux de l'Homme (*Homo sapiens*), du Singe (*Macaca irus*) et de la Souris (*Mus musculus*) ainsi que les principaux types d'anomalies que nous venons de décrire.





Fig. 17 Métaphase humaine normale.





Fig. 18 Métaphase avec une lacune chromatidique.



Fig. 19 Métaphase avec une cassure chromatidique.





Fig. 20 Métaphase avec un échange chromatidique entre deux chromosomes.



Fig. 21 Métaphase avec un échange chromatidique entre deux chromosomes.



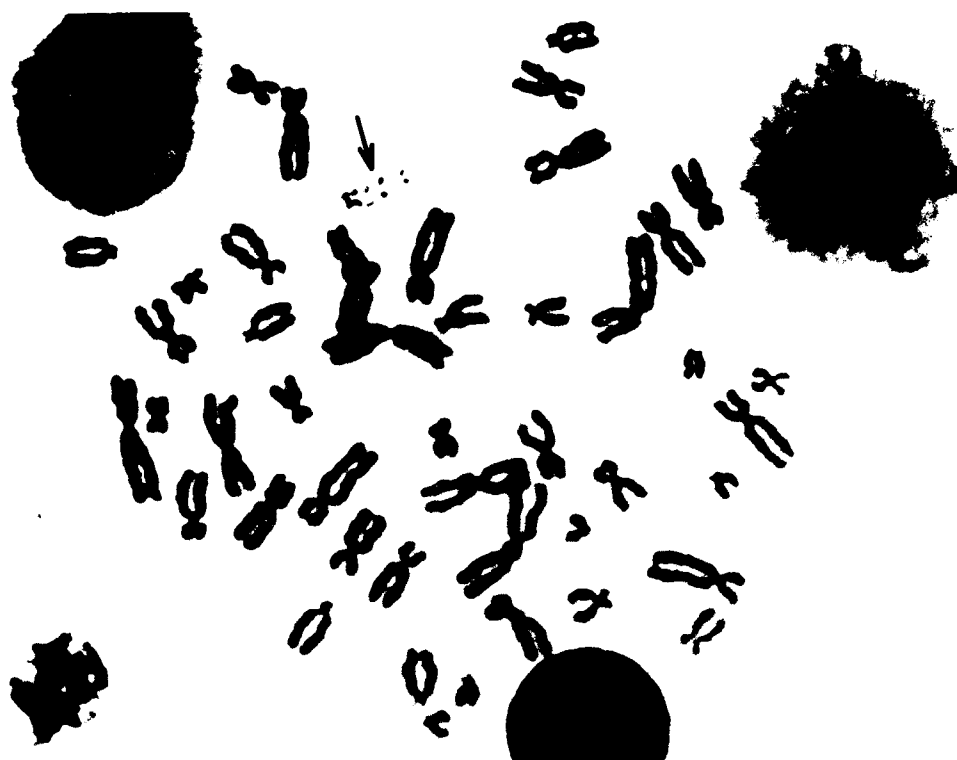


Fig. 22 Métaphase avec une dés spiralisation.

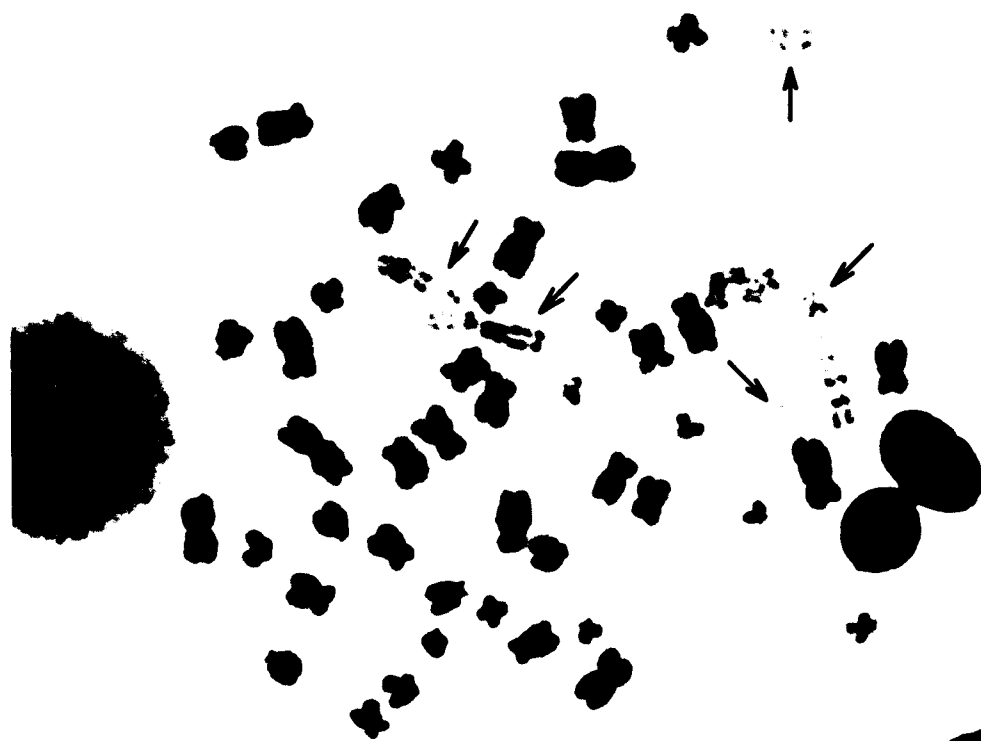


Fig. 23 Métaphase avec plusieurs dés spiralisations.





Fig. 24 Métaphase avec une translocation.



Fig. 25 Métaphase avec une translocation et une lacune chromatidique.



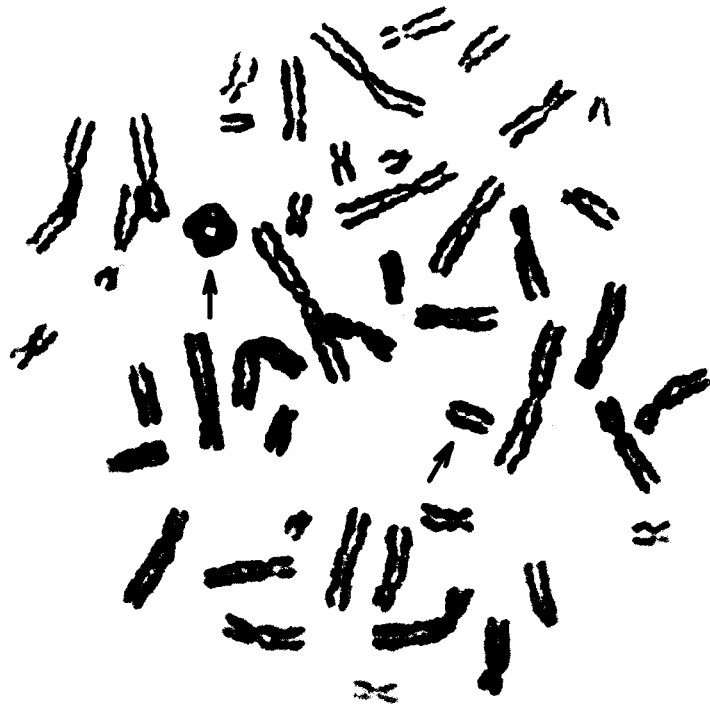


Fig. 26 Métaphase avec un anneau centrique et un fragment chromosomique.



Fig. 27 Métaphase avec un anneau centrique, une lacune chromatidique et un fragment chromosomique.



Fig. 28 Métaphase avec un chromosome dicentrique sans fragment chromosomique.



Fig. 29 Métaphase avec un chromosome dicentrique et un fragment chromosomique.



Fig. 30. Métaphase avec plusieurs chromosomes dicentriques, fragments et un chromosome minute.



Fig. 31 Métaphase avec un chromosome tricentrique, un chromosome dicentrique et deux fragments.



Fig. 32 Métaphase normale de souris.

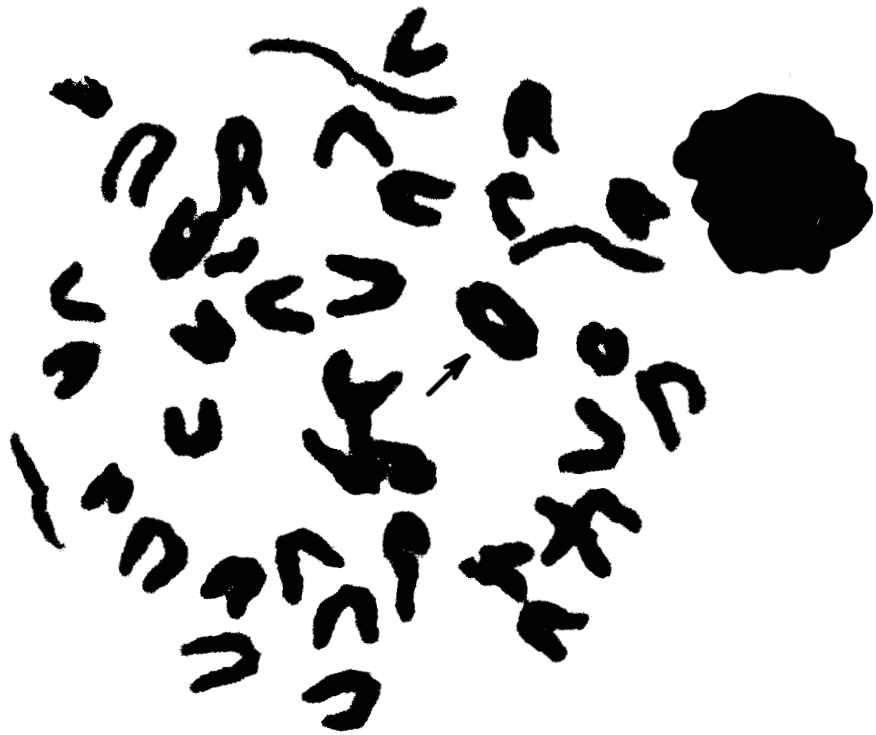


Fig. 33 Métaphase avec un chromosome dicentrique sans fragment chromosomique.



Fig. 34 Métaphase normale de singe.





Fig. 35 Métaphase de singe avec un fragment chromosomique.



Fig. 36 Métaphase de singe avec un chromosome dicentrique et un fragment chromosomique.

Résumé du Chapitre II

Toutes nos observations sur l'Homme et sur le Singe ont été réalisées sur les lymphocytes du sang circulant après stimulation par la phytohémagglutamine. Pour ce faire nous avons utilisé le milieu mis au point par HAM en 1963. Ce milieu contient différents acides aminés, des vitamines et des sels inorganiques, du sérum de veau et des antibiotiques. Il est stérilisé sous pression au moyen d'un système Millipore. Selon les méthodes classiques le sang est cultivé pendant 48 heures à une température de 37 °C, de la colchicine étant ajoutée 2 1/2.h avant l'arrêt de la culture. Après traitement hypotonique au KCl (0,075 M), les cellules sont fixées au méthanol - acide acétique (3 : 1), étalées sur les lames, colorées à l'orcéine lactique et montées.

Pour la Souris nous avons fait nos observations sur les cellules de la moelle osseuse en utilisant une technique de séchage à l'air libre. Une heure avant le sacrifice, les animaux reçoivent une injection intrapéritonéale de colchicine. La moelle osseuse est ensuite prélevée dans 2,2 % de citrate de sodium. Après le choc hypotonique (1 % de citrate de sodium), les cellules sont fixées à l'alcool éthylique - acide acétique (3 : 1). Quelques gouttes de cette suspension sont placées sur des lames, séchées à l'air libre, colorées et montées.

Une exposition à un agent mutagène peut entraîner la production d'anomalies dans le nombre et/ou la structure des chromosomes. Ce

sont ces dernières qui sont les plus fréquentes : on y distingue celles qui affectent *UNE SEULE CHROMATIDE* d'un ou de plusieurs chromosomes et celles qui affectent *LES DEUX CHROMATIDES* d'un ou plusieurs chromosomes. Les aberrations les plus fréquentes sont les lacunes, les fragments et les réarrangements. Le type d'anomalie produite (chromatidique ou chromosomique) dépend essentiellement du stade du cycle cellulaire atteint par la cellule au moment où agit l'agent mutagène. Si le matériel chromosomique est lésé avant la synthèse (S) on observera en métaphase surtout des anomalies chromosomiques. Si par contre, cette action ne se manifeste qu'après la phase de synthèse on observera surtout des anomalies chromatidiques.

Différentes méthodes de classification des anomalies ont été proposées, mais pour la suite de notre travail nous avons adopté un système purement descriptif.

Chapitre III

ETUDE DES PARAMETRES INFLUENCANT LES TAUX D'ANOMALIES OBSERVABLES

Une première étape de notre travail a consisté à étudier l'influence des méthodes de prélèvement, de conservation et de mise en culture du sang périphérique sur les taux d'anomalies observées. Nous avons également essayé, ici, de définir le rôle éventuel de l'âge et du sexe des donneurs de sang. La majorité des travaux de référence dont nous disposons ayant été réalisés sur des lymphocytes humains exposés aux radiations ionisantes nous avons choisi également ce type de mutagène pour l'étude de ces différents paramètres.

1. INFLUENCE DE LA TEMPERATURE ET DE LA DUREE DE LA CONSERVATION DU SANG

1.1. Introduction

Dans bien des cas il est difficile de réaliser la mise en culture immédiatement après le prélèvement, à cause des distances à parcourir entre le lieu de prise des échantillons et le laboratoire où la culture a lieu. Le rassemblement de tous les échantillons nécessaires à une étude peut également nécessiter plusieurs jours. Il était donc

intéressant de voir dans quelle mesure l'intervalle de temps s'écoulant entre le prélèvement et la mise en culture ne pouvant pas influencer les taux d'anomalies observées. L'étude de ces facteurs a été réalisée en stockant le sang avant l'irradiation.

1.2. Matériel et Méthodes

Dans une première expérience, le sang a été conservé au réfrigérateur à 5 °C pendant 0 ou 173 heures avant l'administration de 125, 250 ou 500 R de rayons X, suivie de la mise en culture. Dans une deuxième expérience le sang a été conservé au réfrigérateur (5 °C), à la température ambiante (20 °C) ou dans un bain-marie (37 °C) pendant 0, 24, 48 ou 72 heures avant l'exposition du sang total à 125 R ou 250 R de rayons X, suivie de 48 heures de culture dans les flacons UGB. Les conditions d'irradiation étaient 270 kV, 20 mA, avec un filtre de 1 mm de cuivre (couche de semi-absorption de 1,55) et un débit de 73 R/min.

Dans la première expérience, deux cents cellules seulement ont été analysées pour certains points tandis que dans la seconde étude, quatre cultures ont été faites par point et cent métaphases ont été examinées par culture, soit au total quatre cents cellules par point.

1.3. Résultats

D'après le grand nombre de métaphases rencontrées (plus que 1000) dans chaque culture, l'index mitotique n'est visiblement pas

altéré ni par la durée et la température du stockage ni par les rayons X. Néanmoins, nous avons observé une nette augmentation des anomalies graves après la conservation du sang entier suivie d'une exposition aux rayonnements ionisants. En effet, le nombre de chromosomes dicentriques et de chromosomes en anneau induit par 125, 250 ou 500 R de rayons X après un stockage de 173 heures à 5 °C est deux fois plus élevé que pour les échantillons ayant reçu la même dose directement après le prélèvement et mis en culture immédiatement (tableau XXI).

Tableau XXI

Influence du stockage à 5 °C sur le taux d'anomalies radio-induites (Exp. 1)

Dose administrée (R)	Durée du stockage (h)	Cellules analysées	Pourcentage de cellules avec anomalies	Chromosomes dicentriques + anneaux (par 100 cellules)
125	0	400	29,20±1,20	16,75±1,88
	173	200	49,50±1,58	38,00±4,47
250	0	400	63,25±2,29	62,50±3,86
	173	200	86,00±2,00	110,50±3,08
500	0	200	95,50±0,22	162,00±9,00
	173	400	100,00±0,00	331,75±4,10

La deuxième expérience a montré que dans la plupart des cas un stockage de 24 heures (tableau XXII) peut déjà augmenter significativement et le pourcentage des cellules portant des anomalies

et le nombre de dicentriques et d'anneaux produits par une exposition à 125 ou 250 R de rayons X.

Tableau XXII

Influence du stockage du sang avant l'irradiation et la mise en culture (Exp. 2)

Température de stockage (°C)	Dose administrée (R)	Durée du stockage	Pourcentage de cellules avec anomalies	Chromosomes dicentriques + anneaux (par 100 cellules)
5	125	0	29,20±1,20	16,75±1,88
		24	33,70±1,70	29,50±1,32
		48	39,50±1,53	29,40±1,70
		72	39,20±1,70	24,70±1,20
	250	0	63,25±2,29	62,50±3,86
		24	67,20±3,27	72,50±2,38
		48	77,00±2,56	90,20±3,25
		72	74,70±1,44	90,40±4,97
20	125	0	29,20±1,20	16,75±1,88
		24	33,20±2,50	22,00±0,30
		48	36,70±2,56	28,90±4,31
		72	36,70±0,30	29,40±0,30
	250	0	63,25±2,29	62,50±3,86
		24	66,00±3,54	70,30±8,61
		48	74,50±3,42	79,60±3,92
		72	79,20±1,89	98,70±3,70
37	125	0	29,20±1,20	16,75±1,88
		24	41,00±1,47	29,50±0,24
		48	42,70±2,64	36,40±1,80
		0	63,25±2,29	62,50±2,95
	250	24	72,50±1,32	84,70±2,95
		48	87,00±2,48	114,20±7,16

La conservation du sang à 20 °C, et surtout à 37 °C, pendant 48 ou 72 heures augmente encore le nombre d'anomalies. Le sang conservé à 37 °C pendant 72 heures était hémolysé ce qui a empêché les observations pour cet intervalle de temps. Les détails de l'analyse présentés dans les tableaux XXIII à XXV montrent clairement que la conservation à 37 °C par rapport à celle à 5 °C ou à 20 °C accroît tous les types d'anomalies chromosomiques radioinduites.

Il est à noter que la fréquence des anomalies dans le sang non-irradié est basse pour les différents échantillons ainsi que l'indique le tableau XXVI. Les valeurs coïncident avec ce que l'on trouve dans les populations normales [BOCHKOV, 1972].

1.4. Discussion et conclusion

Nos résultats sur le sang frais concordent parfaitement avec ce qui est apporté dans la littérature [Nations Unies, 1969] pour des expériences *in vitro* de sang total irradié par une dose aiguë de rayons X (pics de tension de 180 kV à 300 kV) avant la stimulation en culture par la phytohémagglutinine et après des périodes de culture allant jusqu'à 54 heures. Ces données sont représentées dans la figure 37.

S'il était généralement admis que la conservation du sang au réfrigérateur, à la température ambiante ou dans un bain-marie à 37 °C ne modifie pas la capacité des lymphocytes à se diviser après stimulation par la PHA [Nations Unies, 1969] on ignorait par contre, jusqu'à nos

TABLEAU XXIII

Types d'anomalies chromosomiques trouvées dans les lymphocytes après stockage du sang à 5° C.

Dose administrée (R)	Durée du stockage (h)	Cellules analysées	Anomalies par 100 cellules						Cassures par cellule	Cassures par cellule par R
			Dicentrique	Tricentrique	Anneau	Minute	Echange chromatidien	Fragment		
125	0	400	14,75	0,25	1,50	4,50	0,50	13,50	0,57	0,00456
	24	400	26,00	-	3,50	6,70	0,25	6,50	0,69	0,00552
	48	400	27,20	0,25	1,70	4,20	0,25	14,00	0,83	0,00664
	72	400	22,70	-	2,00	6,50	-	12,50	0,75	0,00600
250	0	400	55,50	0,50	6,00	11,50	1,25	26,25	1,77	0,00780
	24	400	63,50	1,00	7,00	15,20	0,25	22,50	1,98	0,00792
	48	400	84,20	1,50	3,00	22,00	1,70	31,25	2,60	0,01400
	72	400	81,50	1,70	5,50	22,20	1,00	17,70	2,44	0,00976





TABLEAU XXIV

Types d'anomalies chromosomiques trouvées dans les lymphocytes après stockage du sang à 20° C.

Dose administrée (R)	Durée du stockage (h)	Cellules analysées	Anomalies par 100 cellules					Cassures par cellule	Cassures par cellule par R	
			Dicentrique	Tricentrique	Anneau	Minute	Echange chromatidien			Fragment
125	0	400	14,75	0,25	1,50	4,50	0,50	13,50	0,57	0,00456
	24	400	21,00	-	1,00	6,00	0,25	10,70	0,67	0,00536
	48	400	28,20	-	0,70	5,00	0,25	15,50	0,83	0,00664
	72	400	26,70	-	2,70	4,70	0,50	8,20	0,77	0,00616
250	0	400	55,50	0,50	6,00	11,50	1,25	26,25	1,77	0,00780
	24	400	64,20	1,20	3,70	20,70	1,00	27,00	2,11	0,00844
	48	400	74,20	1,20	3,00	24,50	1,70	25,50	2,37	0,00948
	72	400	91,70	1,50	4,00	28,50	0,50	23,00	2,78	0,01112

TABLEAU XXV

Types d'anomalies chromosomiques trouvées dans les lymphocytes après stockage du sang à 37° C.

Dose administrée (R)	Durée du stockage (h)	Cellules analysées	Anomalies par 100 cellules					Cassures par cellule	Cassures par cellule par R	
			Dicentrique	Tricentrique	Anneau	Minute	Echange chromatidien			Fragment
125	0	400	14,75	0,25	1,50	4,50	0,50	13,50	0,57	0,00456
	24	400	28,00	-	1,50	9,00	0,50	11,00	0,89	0,00712
	48	400	34,00	-	2,20	9,50	0,25	9,50	1,01	0,00880
250	0	400	55,50	0,50	6,00	11,50	1,25	26,25	1,77	0,00780
	24	400	76,70	0,25	7,50	22,70	1,20	21,20	2,38	0,00952
	48	400	99,70	2,00	10,50	44,50	1,70	33,70	3,54	0,01416



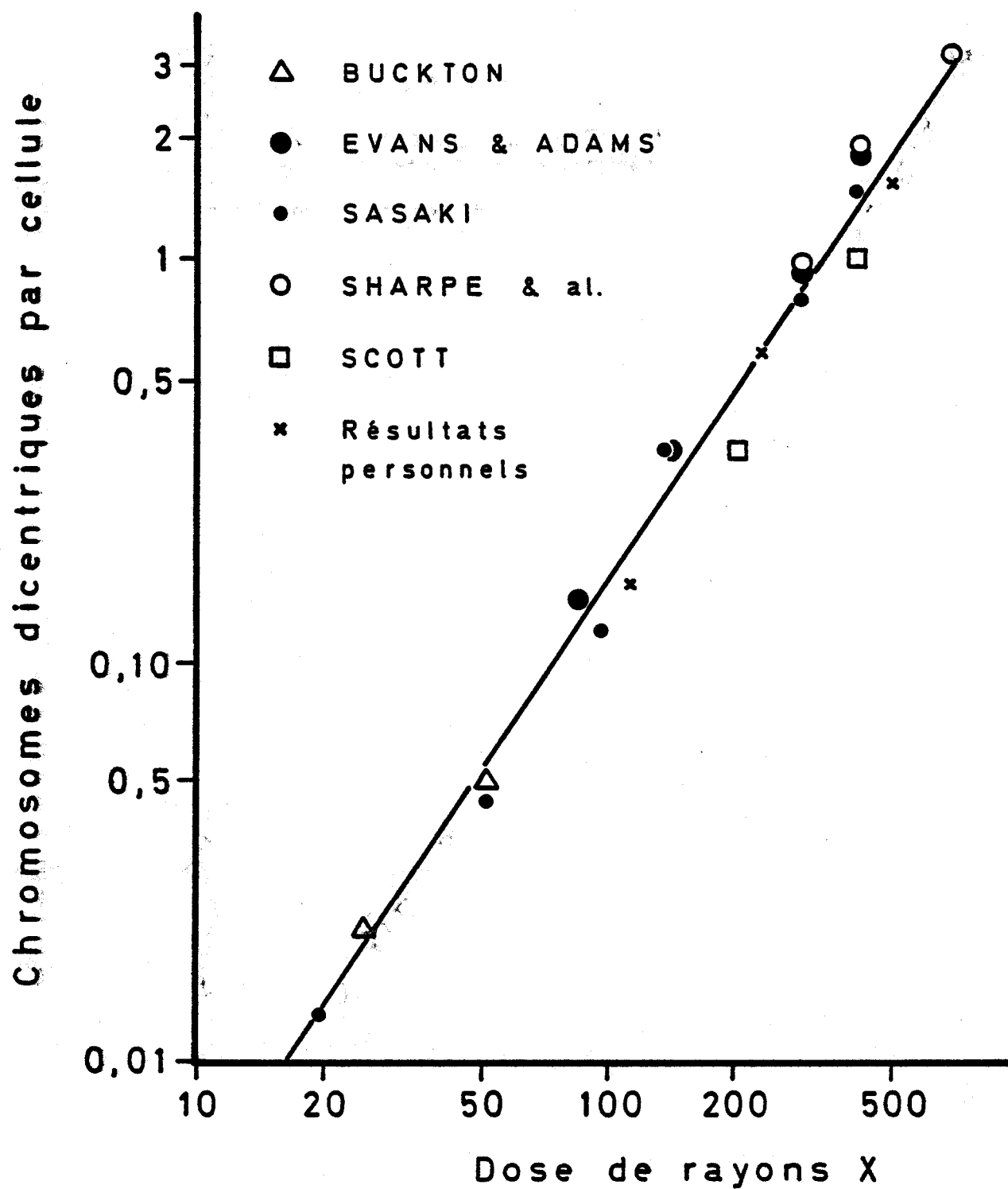
TABLEAU XXVI

Observations chromosomiques dans le sang non-irradié.

Durée du stockage (h)	Température du stockage (° C)	Cellules analysées	Nombre d'anomalies par 100 cellules		Pourcentage des cellules avec anomalies	Cassures par cellule
			Une cassure	Deux cassures		
0	20	400	0,50	-	0,50	0,0005
24	5	400	1,20	-	1,00	0,0012
	20	400	0,50	0,20	0,75	0,0007
48	37	400	1,70	-	1,00	0,0017
	5	400	0,70	0,70	1,50	0,0014
	20	400	1,70	-	1,25	0,0017
72	37	400	1,70	-	1,75	0,0017
	5	400	1,50	-	1,25	0,0015
173	20	400	1,20	0,50	1,50	0,0017
	5	200	1,50	-	1,50	0,0015

Figure 37

RELATION ENTRE LA DOSE DE RAYONS X
ET LE NOMBRE DE CHROMOSOMES DICENTRIQUES
DANS LES LYMPHOCYTES HUMAINS



BUS
LILLE

[Adapté d'après le rapport des Nations Unies, 1969]

observations, que ce stockage pouvait modifier leur réponse à une exposition à des agents mutagéniques. C'est ce qui explique sans doute certaines divergences rapportées dans la littérature quant aux taux d'anomalies radioinduites [Nations Unies, 1969]. Nos résultats montrent que pour les expériences réalisées *in vitro* sur la capacité, pour un agent de produire des anomalies chromosomiques, il est indispensable d'utiliser du sang frais.

2. INFLUENCE DE LA NATURE DU RECIPIENT

2.1. Introduction

Nos premières observations avaient été effectuées sur du sang complet, conservé dans des flacons en matière plastique. Des études réalisées aux Etats-Unis [MAYER et al., 1972 ; W.H.O., 1972 ; FISHBEIN, 1974] ayant suggéré que certains composants des matières plastiques pouvaient être toxiques et même mutagéniques, on ne pouvait donc à priori exclure un rôle éventuel de ce matériel dans l'augmentation du taux d'anomalies observées dans le sang irradié après stockage. Pour cette raison nous avons comparé les taux d'anomalies dans du sang irradié après stockage dans des flacons en verre et en matière plastique. Cette étude se justifiait par le fait que des travaux réalisés par SAEGER et RUBIN [1970] et MARCEL et NOEL [1970] avaient montré que les esters de l'acide phtalique (E.A.P.) et les biphényles polychlorés (B.P.C.) utilisés pour assouplir les matières plastiques pouvaient diffuser dans le sang

stocké en vue des transfusions.

2.2. Matériel et méthodes

Deux échantillons de sang provenant de la même personne ont été utilisés pour cette étude. Pour le premier échantillon nous avons évité soigneusement tout contact avec le plastique. Le sang a été prélevé avec une aiguille en métal, connecté à une seringue en verre et a été transféré dans une bouteille UGB de 15 ml contenant 1,00 mg d'héparine (Roche) afin d'empêcher la coagulation. Le deuxième échantillon a été traité comme d'habitude : nous avons utilisé une seringue en plastique (Terumo) et le sang a été conservé dans un flacon en matière plastique contenant de l'héparine (Stayne Continental). Après conservation, une fraction de chaque échantillon a été irradié avec 250 R de rayons X, le restant étant utilisé comme témoin. La mise en culture a eu lieu selon la technique habituelle directement après l'exposition aux rayons X.

2.3. Résultats

Les cultures lymphocytaires non irradiées provenant du sang conservé aussi bien dans le récipient en plastique que dans celui en verre n'ont pas révélé la présence d'anomalies chromosomiques graves. Comme dans l'expérience précédente nous avons observé (tableau XXVII) dans les échantillons irradiés un nombre statistiquement plus élevé d'anomalies chromosomiques après un stockage de 48 ou 72 h qu'après 24 h seulement

Tableau XXVII

Types d'anomalies chromosomiques induites par 250 R de rayons X dans des lymphocytes après stockage à 5 °C du sang dans des récipients en plastique ou en verre

Type de stockage	Durée de stockage (h)	Cellules analysées	Nombre d'anomalies par 100 cellules							
			Dicentrique	Tricentrique	Anneau	Translocation	Désprialisation	Echange chromatidien	Fragment	Aberrations graves
Plastique	24	400	57,75	0,75	2,50	1,25	-	-	83,25	62,25
	48	400	69,00	0,50	4,50	0,75	-	-	72,75	74,75
	72	200	67,50	-	3,50	2,00	-	-	97,00	73,00
Verre	24	400	59,75	0,75	5,25	0,50	0,25	-	122,75	66,50
	48	400	70,00	-	5,50	0,50	-	0,50	111,00	76,50
	72	269	66,36	1,44	4,83	-	-	-	112,26	74,63

($X^2 = 14,18$; $P < 0,01$ pour le sang conservé dans les bouteilles en plastique et $X^2 = 10,47$; $P < 0,01$ pour le sang stocké dans les flacons en verre). La nature des récipients (plastique ou verre) n'a cependant joué aucun rôle.

2.4. Discussion et conclusion

Nos observations démontrent que la conservation du sang témoin pendant plusieurs jours (3) n'entraîne l'apparition d'aucune anomalie chromosomique dans les lymphocytes. La comparaison des taux d'anomalies radioinduites dans les échantillons de sang conservés dans des flacons en verre et en plastique prouve également que cette matière n'a aucun effet synergique. Il convient cependant de signaler que le biphényl polychloré est considéré comme l'agent responsable de certains cas d'intoxication observés au Japon et notamment de la maladie de Kanemi Yusho [KURATSUNE et al., 1972].

Les résultats publiés jusqu'à présent sont cependant beaucoup plus contradictoires en ce qui concerne l'existence des effets mutagéniques. HOOPINGARNER et al. [1972] n'ont pas observé des anomalies chromosomiques dans les lymphocytes humains exposés à une dose de 100 ppm d'Aroclor 1254, tandis que PEAKALL et al. [1972] ont noté, dans l'analyse de la seconde génération d'embryons de ramiers (*Streptopelia risoria*) nourris à 10 ppm d'Aroclor 1254, une grande fréquence d'aberrations chromosomiques et une mortalité prénatale embryonnaire élevée. KEPLINGER et al. [1971], utilisant le test de la létalité dominante n'ont pu démontrer que les Aroclors avaient des effets mutagéniques.

GREEN et al. [1973], examinant les effets cytogénétiques de l'Aroclor 1242 sur des rats albinos de race Osborne-Mendel, nourris d'une dose aiguë allant de 500 à 5000 mg/kg, ont conclu que si l'Aroclor 1242 ne produisait pas d'anomalies chromosomiques dans la moelle osseuse ni dans les spermatogonies des rats il peut cependant provoquer, à des doses relativement élevées, une diminution du nombre des spermatogonies en division.

3. INFLUENCE DE L'AGE DU DONNEUR DE SANG

3.1. Introduction

L'augmentation, avec l'âge, des aberrations chromosomiques "spontanées" dans les cellules somatiques de la plupart des espèces de mammifères a parfois été considérée [CURTISS et CROWLEY, 1963] comme une preuve indirecte de la théorie du vieillissement par mutation somatique. CURTISS et CROWLEY [1963] ont, en effet, observé que le taux d'anomalies chromosomiques s'accroît plus vite dans des races de souris ayant une durée de vie courte et qu'il existe une relation entre le raccourcissement de la vie et les aberrations chromosomiques induites dans les cellules somatiques de souris exposées aux radiations ionisantes. Précisons cependant immédiatement que la théorie des mutations somatiques est à présent complètement abandonnée par suite de ses contradictions nombreuses [KOHN, 1966 ; BJORKSTEN, 1969]. Quoiqu'il en soit, l'observation faite par McFEE et al. [1970] de l'existence, chez le porc, .

d'une relation évidente entre l'âge du donneur et la radiosensibilité des chromosomes présentait, en ce qui nous concerne, un intérêt pratique immédiat. On pouvait en effet se demander dans quelle mesure ceci était vrai également pour les chromosomes humains soumis à l'action d'un mutagène. Dans ce cas il était évidemment indispensable que pour toutes nos expériences futures nous tenions compte de l'âge du donneur. C'est pour cette raison que nous avons entrepris une étude du même type sur les lymphocytes humains.

3.2. Matériel et méthodes

Des échantillons de sang veineux ont été prélevés chez 17 personnes de sexe féminin appartenant à 3 groupes d'âge : enfants (âge moyen de 4,6 mois variant entre 1 et 11 mois), adultes (âge moyen de 30,4 ans variant entre 29 et 32 ans) et vieilles personnes (âge moyen 71 ans variant entre 63 et 82 ans). Afin d'éviter l'influence d'autres facteurs sur la réponse des lymphocytes aux rayons X, nous n'avons utilisé que du sang de personnes en bonne santé, n'ayant jamais été exposées à des doses significatives de rayons X, de drogues ou de mutagènes chimiques. C'est dans un couvent, que nous avons trouvé des personnes âgées présentant un passé médical aussi exceptionnel (surtout à notre époque). Les échantillons de sang de chaque donneur ont été exposés à 0, 125 ou 250 R de rayons X ; les conditions d'irradiation étaient 270 kV, 20 mA avec un filtre de 1 mm de cuivre (couche de demi absorption de 1,55) et un débit de la dose de 73 R/min. Immédiatement après exposition, 2 échantillons par traitement ont été cultivés durant 48 heures et 100 métaphases

par culture ont été analysées pour la présence d'aberrations numériques et structurelles.

3.3. Résultats

La comparaison des témoins des différents groupes d'âge montre (tableau XXVIII) que le taux d'aneuploidie est significativement augmenté ($p \leq 0,001$, utilisant le test de Chi-carré) chez les personnes âgées (63-82 années). Les cellules aneuploïdes n'ont pas été caryotypées, et l'examen microscopique de ces métaphases a démontré que dans la plupart des cas un chromosome du groupe 6-12 était impliqué. On constate en outre que le nombre d'aberrations de structure (si on ne tient pas compte des lacunes, dont la signification est discutée) augmente significativement avec l'âge ($p < 0,001$).

L'analyse de la variance que nous avons effectuée indique que l'âge ne modifie que légèrement ($p \leq 0,05$) le nombre total de cassures. Nous avons utilisé cette méthode d'analyse statistique parce que la distribution des cassures entre les cellules s'écartait significativement de la distribution de Poisson ($p \leq 0,001$). Dans les échantillons irradiés, le taux d'aneuploidie plus grand, observé chez les personnes âgées, s'explique entièrement par les valeurs déjà beaucoup plus élevées enregistrées chez les témoins. La comparaison des différents groupes indique qu'une exposition à 250 R, et dans une moindre mesure à 125 R de rayons X, a un effet significativement plus important ($p \leq 0,001$ et

Tableau XXVIII

Résultats des observations cytologiques

Groupe	Traite- ment (R)	Cellules analysées	Cellules Aneuploïdes	Cellules avec aberrations de structure	Aberrations chromatidiques				Aberrations chromosomiques									
					Lacune	Dé- lé- tion	Cassure	Echange	Lacune	Frag- ment	Anneaux Acen- triques	Minute	Déspi- ralisa- tion	Trans- loca- tion	Anneau Cen- trique	Dicen- trique	Tricen- trique	Tetra- cen- trique
Nouveau- nés	0	1.200	21 (1,75 ± 0,38)	43 (3,58 ± 0,55)	38 (3,17)	-	2 (0,17)	-	1 (0,08)	4 (0,33)	-	-	-	-	-	-	-	-
	125	1.200	50 (4,17 ± 0,59)	314 (26,17 ± 1,48)	21 (1,75)	-	-	-	-	126 (10,50)	4 (0,33)	4 (0,33)	1 (0,08)	9 (0,75)	20 (1,67)	222 (18,50)	-	-
	250	1.200	89 (7,42 ± 0,79)	689 (57,42 ± 2,19)	43 (3,58)	1 (0,08)	4 (0,33)	5 (0,41)	1 (0,08)	343 (28,58)	10 (0,83)	22 (1,83)	-	21 (1,75)	56 (4,67)	680 (56,67)	5 (0,42)	-
Jeunes adultes	0	1.000	30 (3,00 ± 0,55)	38 (3,80 ± 0,62)	22 (2,20)	-	-	1 (0,10)	1 (0,10)	15 (0,15)	-	-	-	-	-	-	-	-
	125	1.000	42 (4,20 ± 0,65)	258 (25,80 ± 1,61)	30 (3,00)	-	2 (0,20)	-	2 (0,20)	112 (11,20)	5 (0,50)	12 (1,20)	-	3 (0,30)	20 (2,00)	139 (13,90)	1 (0,10)	-
	250	1.000	83 (8,30 ± 0,91)	536 (53,60 ± 2,32)	27 (2,70)	-	2 (0,20)	-	-	263 (26,30)	13 (1,30)	32 (3,20)	4 (0,40)	13 (1,30)	37 (3,70)	447 (44,70)	4 (0,40)	1 (0,10)
Personnes âgées	0	1.200	92 (7,67 ± 0,80)	52 (4,33 ± 0,60)	14 (1,17)	-	1 (0,08)	2 (0,17)	-	30 (2,50)	-	-	-	1 (0,08)	3 (0,25)	4 (0,33)	-	-
	125	1.200	111 (9,25 ± 0,88)	297 (24,75 ± 1,44)	24 (2,00)	1 (0,08)	-	-	-	137 (11,42)	3 (0,25)	10 (0,83)	-	5 (0,42)	23 (1,92)	161 (13,42)	-	-
	250	1.200	151 (12,58 ± 1,02)	758 (63,17 ± 2,29)	25 (2,08)	1 (0,08)	-	1 (0,08)	-	452 (37,67)	22 (1,83)	33 (2,75)	-	23 (1,92)	63 (5,25)	681 (56,75)	8 (0,67)	-



$p < 0,001$ respectivement) dans la production des aberrations graves de structure chez les enfants et les personnes âgées que chez les jeunes adultes. Ce n'est qu'après 250 R que l'on observe un effet de l'âge sur le nombre total de cassures radioinduites.

3.4. Discussion et conclusion

L'augmentation du nombre de cellules aneuploïdes, dans le sang, avec l'âge du donneur concorde avec les travaux réalisés depuis 1961 chez l'Homme [JACOBS et al., 1961 ; 1963 ; HAMERTON et al., 1965] et les animaux [BRUERE, 1967]. JACOBS et ses collaborateurs [1963] ont expliqué cette augmentation, du nombre de cellules aneuploïdes chez les femelles, par la perte d'un des deux chromosomes X. Nos résultats confirment qu'un chromosome du groupe C est généralement impliqué. En 1963, PISCIOTTA et ses collaborateurs ont démontré que la transformation blastique et l'activité mitotique étaient diminuées dans les cultures de lymphocytes provenant des personnes âgées ainsi que chez les enfants par rapport à ce que l'on observe chez les jeunes adultes. Nous n'avons constaté une telle diminution de l'index mitotique que pour le groupe de 63 à 82 ans surtout après irradiation. La radiosensibilité accrue des chromosomes des jeunes enfants et des personnes âgées que nous avons constatée concorde avec ce qui est rapporté dans la littérature non seulement chez l'Homme [BOCHKOV et PILOSOV, 1968 ; SASAKI et al., 1970] mais également chez d'autres mammifères tels que le porc [McFEE et al., 1970]. Signalons cependant que LINIECKI et al. [1971] et KUCEROVA et al. [1976] n'ont pu observer une telle relation dans l'espèce humaine.

Résumé et conclusions du chapitre III

Certains effets biologiques, et notamment les effets mutagéniques, peuvent résulter de l'interférence ou de la synergie de divers agents physiques ou chimiques. Le but de ce travail étant d'étudier l'effet du zinc, du plomb et du cadmium sur les chromosomes des mammifères nous avons voulu éviter, autant que faire se peut, que l'action de ces métaux sur le matériel étudié ne soit perturbée par la méthodologie utilisée. Dans ce but nous avons étudié l'action possible de trois facteurs qui étaient susceptibles de modifier les taux d'anomalies chromosomiques produits par un agent mutagène : l'âge du donneur, la durée et la température du stockage du sang et la composition chimique des récipients utilisés. Pour faciliter la mise en évidence d'un effet éventuel de ces paramètres nous avons choisi d'utiliser un agent mutagène (les rayons X) produisant un taux élevé d'anomalies chromosomiques.

I. Influence de la durée et de la température du stockage du sang

Du sang veineux hépariné a reçu des doses de 0, 125, 250 ou 500 R de rayons X après avoir été stocké à des températures de 5 °C, 20 °C ou 37 °C pendant des périodes de temps allant jusqu'à 173 heures. Immédiatement après l'irradiation le sang a été mis en culture pour 48 heures. L'analyse chromosomique des différents échantillons a démontré que la durée du stockage et la température à laquelle il a lieu augmente de façon très importante le taux d'anomalies observées. Cet effet pourrait être dû à une modification, par le stockage, de la capacité de réparation

des dommages induits dans les chromosomes des lymphocytes.

2. Influence de la composition du récipient

Puisque dans l'étude précédente le sang a été conservé dans des tubes en plastique il n'était donc pas exclu que des composants de ces récipients aient migrés dans le sang et aient interférés avec l'action des rayons X.

Pour répondre à cette question nous avons étudié le taux d'anomalies chromosomiques dans des lymphocytes stockés durant différentes périodes (24, 48 ou 72 h) dans des récipients en plastique ou en verre avant l'irradiation et la mise en culture. L'effet du stockage ayant été identique quelque soit le type de récipients utilisés ceci nous a permis d'exclure un rôle éventuel du plastique dans l'augmentation du taux d'anomalies radioinduites dans du sang préalablement stocké.

3. Influence de l'âge du donneur de sang

Des échantillons de sang veineux d'enfants (âge moyen 4,6 mois), d'adultes (âge moyen 30,4 ans), et de personnes âgées (âge moyen 71 ans) ont été exposés à 0, 125 et 250 R de rayons X. La comparaison des différents groupes d'âge révèle que, chez les témoins, le taux de cellules aneuploïdes et d'aberrations structurelles augmente avec l'âge. Après exposition à 250 R l'incidence d'aberrations structurelles graves est plus marquée chez les nouveau-nés et les vieillards que chez les adultes.

A la lumière de ces résultats nous avons décidé, pour nos expériences ultérieures *in vitro*, de n'utiliser que du sang frais de jeunes adultes.

Chapitre IV

ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE EFFECTUEE CHEZ LES TRAVAILLEURS DE LA METALLURGIE DU ZINC

1. DESCRIPTION DE L'INDUSTRIE

L'industrie du zinc est évidemment beaucoup moins répandue que la métallurgie du fer mais elle est beaucoup plus polluante que celle-ci. Ce métal se trouve en effet généralement associé à d'autres non-ferreux tels que le cadmium et le plomb. Les uns et les autres se rencontrent le plus souvent sous forme de sulfures et à des teneurs relativement faibles. La séparation et la purification de ces différents métaux produisent beaucoup d'impuretés (poussières, gaz) qui, par suite de leur toxicité, présentent un danger indéniable pour les travailleurs.

Le minerai le plus utilisé dans les usines dont nous avons étudié les travailleurs est le sphalérite ou blende (ZnS) dont la teneur en zinc varie de 40 à 50 %. La séparation du cadmium, du plomb et du zinc est basée sur la différence des points de fusion qui sont respectivement de 320, 327 et 419 °C.

1.1. Etapes de la production

1.1.1. Enrichissement et traitement du minerai

Dans une première étape, la teneur du minerai en métaux non-ferreux est augmentée par flottation. Celle-ci est suivie d'une agglomération, qui consiste dans le grillage du minerai, l'élimination des produits volatils et autres impuretés, et dans la formation de grains agglomérés plus gros, sous forme d'oxyde de zinc, ayant un pourcentage plus élevé de zinc. Au cours de ces traitements aussi bien qu'au chargement, déchargement et transport, qu'à l'exposition au feu, ont lieu des dégagements de poussières et des émissions de gaz. Les systèmes d'épuration retiennent la majorité des poussières tandis que les gaz sont évacués dans l'atmosphère. La quantité de SO_2 rejetée dépend de la teneur du minerai en soufre. Le grillage se fait à température élevée (± 900 °C). Des poussières froides pouvant contenir jusqu'à 60 % de plomb et 10 % de cadmium sont également produites lors de la manipulation des électro-filters utilisés pour la séparation des métaux présents dans les boues.

1.1.2. Fours

Les fours servent à fondre les agglomérés de minerai qui sont introduits en même temps que le coke, en couches successives par la partie supérieure du four. A la partie inférieure appelée étalage et où se trouvent les premières couches de ce mélange (minerai et charbon), on insuffle l'air et le gaz combustible chauds. C'est la phase de fusion et de réduction dans les fours qui aboutit à la production de zinc

métallique ayant un degré de pureté atteignant 95 à 99 %. Dans le service des fours à zinc, les travailleurs sont en contact avec des fumées provenant des creusets horizontaux utilisés pour la réduction d'oxyde de zinc métal. La teneur en plomb du minerai est au maximum de 1 % tandis que la teneur en cadmium est négligeable. La température du four est de l'ordre de 1100 °C et une ventilation importante entraîne rapidement ces fumées, mais peut aussi mettre en suspension les poussières froides du sol.

1.1.3. Raffinage

Le zinc est purifié par liquation ou par distillation fractionnée. On obtient ainsi finalement un métal pur que l'on coule en lingots. Lors de cette opération se produisent des poussières de minerai, des oxydes métalliques, de la fumée contenant des particules fines et du SO₂.

1.1.4. Fonderies et laminoirs

Dans les fonderies et les laminoirs le métal est porté à son point de fusion, afin d'obtenir de nouvelles formes par coulée ou compression. Au cours du chauffage sont aussi produites de petites quantités de gaz et des particules qui sont évacuées dans l'atmosphère. Ces diverses opérations peuvent entraîner une exposition légère au plomb et au cadmium.

1.2. Métallurgie du plomb et du cadmium

Les scories, sous-produits de la métallurgie du zinc, contiennent du plomb, du cadmium et d'autres produits. Elles seront traitées à leur tour comme du minerai brut. Les différentes étapes de leur fabrication sont en grande partie identiques à celles de la métallurgie du zinc et peuvent produire une certaine pollution de l'air par le cadmium et le plomb.

1.3. Implantation et production de l'industrie examinée

Ces usines qui traitent le zinc et ses sous-produits, le plomb et le cadmium, sont implantées face à face sur les deux rives de la Meuse aux environs de Liège. Cette zone industrielle est située dans un creux du relief et est entourée de versants surplombant le fleuve de quelque cent mètres. La matière première est acheminée par le Canal Albert, qui peut accueillir des embarcations d'environ 9000 tonnes. Cette situation permet de joindre les avantages d'une position semi-maritime à la proximité d'une grande ville fournissant la main d'oeuvre. Ces usines emploient environ 2000 personnes pour une production annuelle de 60 000 tonnes. Les principaux produits commercialisés par cette entreprise sont :

- le zinc fin de grande pureté
- le zinc laminé
- la poussière de zinc
- les alliages zinc-plomb et zinc-aluminium

- le plomb
- le cadmium
- la poudre de cadmium
- l'oxyde de cadmium
- le sulfate de cadmium
- les soudures d'étain.

2. DESCRIPTION DE LA POPULATION ETUDIEE

Nous avons réalisé nos observations, en deux étapes, sur un total de 49 ouvriers de sexe mâle. Dans une première recherche nous n'avons pris en considération que des personnes dont le taux de plomb dans l'urine dépassait la valeur admise pour des personnes professionnellement exposées (150 µg/l) [DAVIES, 1972]. Ces ouvriers, qui provenaient de différents services de l'usine, présentaient tous des signes d'intoxication par le plomb. Dans une seconde étape nous avons sélectionné les ouvriers chez lesquels la teneur en plomb dans le sang ne dépassait pas 80 µg %. Ces personnes appartenaient au service du cadmium et au service des laminoirs. Les dosages du plomb et/ou du cadmium sanguins ou urinaires ont été effectués dans le laboratoire du Professeur Lauwereys où une méthode sensible et spécifique de dosage simultané du plomb et du cadmium a été développée [VENS et LAUWEREYS, 1972]. Elle combine les techniques de la chromatographie sur résines échangeuses d'ions et de l'absorption atomique. Les témoins ont été choisis aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur de l'usine. Nous avons effectué auparavant une enquête sur les lieux d'habitation, le mode de vie ainsi que sur le passé médical

des témoins et des personnes exposées de façon à éliminer celles qui avaient reçu des doses de radiations ionisantes autres que celles provenant des examens radiographiques normaux ainsi que celles ayant été employées précédemment dans l'industrie chimique ou ayant été traitées par des mutagènes connus. Le détail des groupes analysés (exposés et témoins) est donné dans le tableau XXIX.

Pour la première étude nous avons finalement retenu 14 travailleurs dont 7, selon la classification de DAVIES [1972] avaient un taux de plomb urinaire ($250 \mu\text{g}/\ell$) estimé dangereux tandis que les 7 autres présentaient un excès de plomb urinaire (taux variant entre 150 et $250 \mu\text{g}/\ell$). L'âge de ces personnes variait entre 27 et 56 ans (âge moyen $40,14 \pm 2,55$) et les durées d'exposition allaient de 6 mois à 26 ans (moyenne $10,80 \pm 2,70$). Dans le second cas nous avons examiné 35 ouvriers : 23 provenant du service du cadmium et 12 du service des laminoirs. Pour 21 d'entre eux le taux de plomb sanguin ne dépassait pas la normale ($< 40 \mu\text{g} \%$) tandis que pour les 14 autres il restait acceptable (de 40 à $80 \mu\text{g} \%$). Tous les travailleurs du service du cadmium, à l'exception d'un seul, avaient un taux de plomb, et en général de cadmium, plus élevé que ceux du service des laminoirs. Les personnes exposées que nous avons étudiées dans la seconde partie étaient âgés de 19 à 58 ans (âge moyen $38,31 \pm 1,71$) et occupaient leur emploi depuis 2 à 27 ans (moyenne $11,83 \pm 1,64$). Nous avons fait appel, au total pour les 2 études, à 17 témoins, choisis parmi le personnel de l'administration de l'usine même et âgés de 19 à 56 ans (âge moyen $35,41 \pm 2,77$) et à 20 témoins, pris au hasard et provenant de l'extérieur. L'âge de ces derniers variait

Tableau XXIX
Groupes expérimentaux

Niveau d'exposition au plomb	Service	N° du cas	Plomb urinaire (µg/l)	Plomb sanguin (µg %)	Cadmium sanguin (µg %)	Age (années)	Durée de l'exposition (années)	Aberrations graves par 100 cellules
Dangereux	Divers	1	720			28	0,75	1,00
		2	800			35	1	.
		3	351			54	25	0,67
		4	305			48	23	0,33
		5	275			36	2	.
		6	260			58	26	1,00
		7	250			27	3,25	0,33
Excessif	Divers	8	246			40	11	0,25
		9	242			44	26	.
		10	218			38	9	1,67
		11	183			35	3,75	0,67
		12	180			48	13	1,00
		13	165			27	0,50	0,67
		14	155			46	7	1,33
Acceptable	Cadmium	15		75,9	2,42	27	12	.
		16		59,7	3,68	43	19	0,50
		17		59,0	1,60	29	8	2,00
		18		56,0	3,90	42	5	0,50
		19		55,2	4,26	43	26	.
		20		54,5	4,30	34	9	0,50
		21		53,1	3,03	51	26	1,00
		22		51,0	0,60	25	7	2,00
		23		49,2	1,18	39	3	0,50
		24		46,4	17,90	49	18	.
		25		43,6	2,25	49	24	1,50
		26		43,4	2,62	38	12	0,50
		27		42,8	4,71	50	8	.
		28		41,7	1,43	39	9	1,00
		29		38,7	1,86	44	6	5,00
		30		36,3	2,06	29	5	0,50
		31		34,6	2,07	39	4	1,00
		32		33,7	1,00	36	7	.
		33		33,5	1,97	43	8	1,00
		34		33,1	3,38	44	22	1,00
35		32,2	2,04	52	25	1,00		
36		29,1	3,36	42	10	1,50		
Normal	Laminiers	37	23,5	1,18	37	4	.	
		38	27,8	0,28	26	11	.	
		39	26,7	1,43	47	27	.	
		40	25,1	0,17	53	25	1,00	
		41	23,2	< 0,05	58	42	1,00	
		42	22,2	1,25	22	7	.	
		43	20,8	< 0,05	42	7	.	
		44	20,3	1,45	19	2	1,00	
		45	19,1	0,40	32	2	0,50	
		46	17,9	< 0,14	25	5	0,50	
		47	17,5	1,04	32	5	0,50	
		48	16,1	0,93	41	2	1,50	
		49	12,8	0,34	20	2	1,00	
Témoins	(Intérieur de l'usine)	1				38	.	.
		2				31	.	.
		3				46	.	.
		4				46	.	.
		5				55	.	.
		6				43	.	.
		7				19	.	.
		8				23	.	.
		9				20	.	.
		10				22	.	.
		11				30	.	.
		12				26	.	.
		13				37	.	0,50
		14				38	.	.
		15				38	.	.
		16				56	.	0,50
		17				34	.	0,50
Témoins	(Extérieur de l'usine)	1				30	.	.
		2				37	.	.
		3				34	.	.
		4				50	.	.
		5				54	.	.
		6				29	.	.
		7				28	.	.
		8				49	.	.
		9				40	.	.
		10				39	.	.
		11				18	.	.
		12				19	.	.
		13				18	.	.
14				20	.	.		
15				18	.	.		
16				29	.	.		
17				29	.	.		
18				33	.	.		
19				32	.	.		
20				29	.	.		

de 18 à 54 ans (âge moyen $31,75 \pm 2,40$).

Pour chaque individu, 2 échantillons de 0,5 ml de sang complet, ont été cultivés selon la technique décrite dans le chapitre II et un minimum de 200 métaphases par personne a été analysé. Pour cette étude, effectuée chez 86 personnes, nous avons donc examiné un total de 19 000 métaphases : 11 400 chez les 49 personnes exposées et 7600 chez les témoins. Il faut remarquer que la grande majorité des travailleurs, sur lesquels cette étude a été effectuée est composée d'ouvriers étrangers (Nord Africains, Espagnols, Grecs et Turcs) ayant des habitudes alimentaires minimales et dont nous avons dû éliminer un grand nombre parce qu'ils avaient reçu de nombreuses radiographies par suite d'une incidence plus élevée de fractures des membres.

3. RESULTATS DES ANALYSES

Le tableau XXX donne le détail des résultats de l'analyse chromosomique pour chaque personne et chaque niveau d'exposition. Dans ce tableau nous avons regroupé l'ensemble des travailleurs ayant fait l'objet des deux études en fonction de leur niveau d'intoxication. Quatre types d'anomalies chromatidiques lacunes, cassures, délétions, et échanges et six types d'aberrations chromosomiques lacunes, fragments, déspiralisations, translocations, anneaux centriques et chromosomes dicentriques ont été observés. Plusieurs d'entre eux sont illustrés dans le chapitre II.

Tableau XXX
Analyse chromosomique des travailleurs de l'industrie de zinc

Niveau d'exposition au plomb	N° du cas	Cellules analysées	Cellules porteuses d'aberrations de structure	Type et nombre d'aberrations de structure observées										
				Aberrations chromosomiques				Aberrations chromosomiques						
				Laune	Cesure	Délétion	Echange	Laune	Fragment	Désinsertion	Translocation	Anneau	Dicentrique	Total des aberrations graves
Dangereux	1	300	10	4	1	-	-	-	3	-	-	-	3	3
	2	300	2	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	300	4	1	-	-	-	-	1	-	-	-	2	2
	4	300	11	4	-	-	1	-	7	-	-	-	-	1
	5	300	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6	400	13	2	2	-	-	-	8	2	-	1	1	4
	7	300	11	2	4	-	-	-	1	4	-	-	1	1
Total		2200	52	14	9	0	1	1	23	2	0	1	7	11
Moyenne par 100 cellules			2,36	0,64	0,41		0,05	0,05	1,05	0,09		0,05	0,32	0,50
Excessif	8	400	12	6	-	-	-	1	4	-	-	-	1	1
	9	300	2	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
	10	300	10	4	-	-	-	-	2	2	-	-	3	5
	11	300	6	-	3	-	1	-	2	-	-	-	1	2
	12	300	9	1	4	-	-	-	2	-	-	1	2	3
	13	300	12	5	2	-	1	-	3	-	-	-	1	2
	14	300	19	8	1	-	1	-	6	-	-	-	3	4
Total		2200	70	25	10	0	3	1	20	2	0	1	11	17
Moyenne par 100 cellules			3,18	1,14	0,45		0,14	0,05	0,91	0,09		0,05	0,50	0,77
Acceptable	15	200	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	16	200	5	3	-	-	-	1	1	-	-	-	1	1
	17	200	8	1	-	-	-	2	4	1*	1	-	2	4
	18	200	4	3	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
	19	200	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	20	200	6	5	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
	21	200	2	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	2
	22	200	4	-	-	-	1	-	-	-	-	-	3	4
	23	200	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
	24	200	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	25	200	14	9	-	-	-	1	5	-	-	-	3	3
	26	200	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	1
	27	200	3	2	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
28	200	2	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	2	
Total		2800	51	23	1	0	7	4	11	1*	2	0	10	20
Moyenne par 100 cellules			1,82	0,82	0,04		0,25	0,14	0,39	0,04	0,07		0,36	0,71
Normal	29	200	10	-	-	-	2	-	3	-	-	1	7	10
	30	200	5	1	-	-	-	3	3	-	-	-	1	1
	31	200	5	-	-	-	-	-	4	-	-	-	2	2
	32	200	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	33	200	2	1	-	-	-	-	3	-	-	-	2	2
	34	200	6	3	-	-	1	1	-	-	-	-	1	2
	35	200	4	1	-	-	1	-	1	-	-	-	1	2
	36	200	5	-	-	-	-	2	2	-	-	-	3	3
	37	200	3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	38	200	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
	39	200	3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	40	200	9	5	-	-	-	-	2	-	-	-	2	2
	41	200	13	7	1	-	-	-	5	-	-	1	-	2
	42	200	7	5	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-
	43	200	11	7	-	-	-	-	2	2	-	-	-	-
	44	200	2	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	2
	45	200	6	5	-	-	-	1	-	1	-	-	-	1
46	200	8	4	-	-	-	-	1	3	-	-	1	1	
47	200	10	6	1	-	-	-	1	3	-	1	-	1	
48	200	11	3	2	1	-	-	-	6	-	1	2	3	
49	200	14	6	5	-	-	-	-	1	-	-	2	2	
Total		4200	136	61	9	1	6	11	41	1	1	4	24	36
Moyenne par 100 cellules			3,24	1,45	0,21	0,02	0,14	0,26	0,98	0,02	0,02	0,10	0,57	0,86

BUS
LILLE

Tableau XXX
Analyse chromosomique des travailleurs de l'industrie de zinc (suite)

Niveau d'exposition au plomb	N° du cas	Cellules analysées	Cellules porteuses d'aberrations de structure	Type et nombre d'aberrations de structure observées										
				Aberrations chromatidiques				Aberrations chromosomiques						
				Lacune	Camure	Déletion	Echange	Lacune	Fragment	Désorganisation	Translocation	Anneau	Dicentrique	Total des aberrations graves
Témoins (intérieur de l'usine)	1	400	2	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-
	2	200	8	7	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-
	3	200	7	4	1	1	-	1	-	-	-	-	-	-
	4	200	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	200	5	3	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-
	6	200	2	2	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
	7	200	14	15	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	200	3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	9	200	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10	200	12	11	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
	11	200	7	6	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
	12	200	5	4	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
	13	200	4	1	-	-	-	1	-	2	-	-	-	1
	14	200	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	15	200	6	4	-	-	-	-	1	2	-	-	-	-
	16	200	10	10	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
	17	200	7	3	-	-	1	-	-	4	-	-	-	1
Total		3600	97	78	1	3	2	5	15	0	0	0	1	3
Moyenne par 100 cellules			2,69	2,17	0,03	0,08	0,06	0,14	0,42				0,03	0,08
Témoins (extérieur de l'usine)	1	200	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	200	8	4	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-
	3	200	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	200	7	4	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-
	5	200	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6	200	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	7	200	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	200	5	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	9	200	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10	200	8	7	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	11	200	8	6	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-
	12	200	8	4	-	-	-	-	2	2	-	-	-	-
	13	200	5	3	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-
	14	200	6	4	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-
	15	200	4	2	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-
	16	200	5	4	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
	17	200	3	1	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-
	18	200	10	7	-	-	-	-	1	3	-	-	-	-
	19	200	5	4	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-
	20	200	6	4	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-
Total		4000	95	67	1	0	0	18	12	0	0	0	0	0
Moyenne par 100 cellule			2,38	1,68	0,03			0,45	0,30					

* Cellule contenant plusieurs désorganisations.

Parmi ces anomalies ce sont les lacunes chromatidiques et les fragments chromosomiques que l'on rencontre le plus fréquemment. A ce propos il est intéressant de remarquer que les lacunes chromatidiques sont bien souvent plus nombreuses chez les témoins. La plupart des métaphases anormales ne contiennent qu'une aberration, encore que dans certains cas nous ayons observé deux ou plusieurs anomalies. Ceci explique le fait que le total des figures de différents types d'aberrations est, dans chaque catégorie, toujours plus élevé que le nombre des cellules anormales. Il existe aussi une grande variation dans la fréquence des anomalies rencontrées chez les diverses personnes. Le nombre de cellules porteuses d'anomalies de structure ne semble pas être influencé par le degré d'intoxication ni chez les travailleurs qui ont fait l'objet de la première étude (2,77 %) ni chez ceux que nous avons examinés dans la seconde (2,67 %). Il en va de même pour les témoins pris à l'intérieur de l'usine (2,69 %) ou à l'extérieur (2,38 %). Par contre nous avons rencontré des anomalies graves de structure (échanges, désérialisations, translocations, anneaux centriques et chromosomes dicentriques) chez les ouvriers exposés (0,64 % pour la première étude ; 0,80 % pour la deuxième) et même chez les témoins choisis à l'intérieur de l'usine (0,08 %). Ces types d'aberrations étaient absents chez les témoins pris à l'extérieur. Nous ignorons la cause des 3 anomalies graves (2 échanges de type chromatidique et 1 chromosome dicentrique) observées chez les témoins. Les analyses statistiques concernant les anomalies graves ont montré que les différences sont hautement significatives entre les groupes exposés et les témoins ($\chi^2 = 53$, $p = 7 \times 10^{-9}$) mais pas au sein des groupes exposés ou des groupes témoins.

Tous les ouvriers (à l'exception d'un) du service du cadmium présentaient dans leur sang (tableau XXIX) un taux de plomb et en général de cadmium plus élevé que les travailleurs du service des laminoirs. Ces teneurs plus élevées s'accompagnent d'un nombre plus grand (0,91 %) d'anomalies graves dans le service du cadmium que dans le service des laminoirs (0,58 %). La différence n'est cependant pas statistiquement significative. Signalons encore que nous n'avons observé aucune aberration complexe chez le travailleur présentant un taux de cadmium extrêmement élevé (17,90 µg %) alors que celui du plomb dépassait également la normale (46,40 µg %). En général nous n'avons pu déceler aucune relation évidente entre l'âge de l'ouvrier, la durée d'exposition et le taux d'anomalies graves. Paradoxalement nous avons trouvé (tableau XXX) dans les personnes exposées, que les anomalies graves étaient les moins nombreuses là où la charge corporelle en plomb était la plus élevée (catégorie excessive). Finalement, chez les travailleurs exposés, sur un total de 11 400 métaphases analysées, nous avons noté 84 anomalies graves dont 52 étaient du type dicentrique, une anomalie fréquemment rencontrée après une exposition aux radiations ionisantes. Sur les 49 travailleurs examinés, 36 présentaient un taux d'aberrations graves (0,99 %) et de dicentriques (0,61 %) nettement plus élevé que ce que l'on observe dans une population normale (1 dicentrique pour 2 à 3 000 cellules).

4. DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Une revue de la littérature publiée sur la mutagénicité du plomb, du cadmium et du zinc révèle que si de nombreux auteurs se sont attachés

à l'étude des personnes intoxiquées par le plomb (saturnisme) ou par le cadmium (maladie "Itai-Itai"), le zinc n'a, par contre, suscité que peu d'intérêt.

Le sujet étant mieux connu, et par conséquent plus facile à aborder, nos premières observations ont porté sur des personnes qui toutes présentaient des signes d'intoxication par le plomb. Par la suite, nous nous sommes intéressés à des personnes professionnellement exposées mais ne présentant pas les symptômes du saturnisme. Les résultats positifs que nous avons enregistrés ont été confirmés par ceux de BAUCHINGER et al. [1976], qui ont trouvé 17 anomalies graves chez 24 travailleurs provenant eux aussi d'une industrie de zinc. Ces anomalies ont été attribuées soit au plomb (1^e étude) soit au cadmium (2^e étude), [BAUCHINGER et al., 1976]. Le tableau XXXI résume la littérature abondante parue sur ce sujet et montre que dans bien des cas les résultats sont contradictoires. Dans nos études, tout comme d'ailleurs dans celles de BAUCHINGER et al. [1976] le taux d'anomalies graves était statistiquement plus élevé que chez les témoins mais cependant beaucoup plus faible que celui enregistré chez les personnes souffrant de la maladie "Itai-Itai" [SHIRAIISHI et JOSIDA, 1972 ; BUI et al., 1975 ; SHIRAIISHI, 1975]. Remarquons que dans ce dernier cas les anomalies graves ont été attribuées au cadmium. Ces résultats apparemment contradictoires peuvent très probablement s'expliquer par l'hétérogénéité du matériel étudié et par les conditions très variables d'exposition. Nos travailleurs comme la plupart de ceux qui ont été étudiés par les autres auteurs sont en fait exposés à une série de substances chimiques dont plusieurs représentent des mutagènes potentiels. Comme nous l'avons vu, dans

Tableau XXXI
Revue comparative des analyses chromosomiques effectuées chez l'homme exposé à des métaux lourds

Auteurs	Type d'exposition	Personnes exposées	Cellules analysées	Durée de la culture (h)	Anomalies légères		Anomalies graves		Interprétation	
					Total	Par 100 cellules	Total	Par 100 cellules	Auteurs	Statistique
Schwanitz <i>et al.</i> (1970)	Témoins	15	1 500	?	91	6,07	1	0,07	+	-
	Usine d'oxide de plomb	8	800	?	179	22,38	1	0,13		
Sperling <i>et al.</i> (1970)	Témoins	10	1 000	48	135	13,50	1	0,10	-	-
	Fabrique de batteries	5	500	48	54	10,80	1	0,20		
Bauchinger <i>et al.</i> (1972)	Témoins	20	1 300	48	30	2,31	0	0	-	+
	Policiers de la circulation	29	2 900	48	55	1,90	9	0,31		
Forni <i>et Secchi</i> (1972)*	Témoins	65	6 405	70	?		?		+	?
	Fabriques de batteries									
	Fonderies de plomb Manufactures de céramique Industrie du plastique	65	6 500	70	?		?			
Schmid <i>et al.</i> (1972)	Témoins	20	1 300	48	29	2,23	0	0	-	-
	Soudeurs de plomb-étain									
	Fabriques de batteries Usines de stéarate de plomb	32	3 250	48	67	2,06	1	0,03		
Shiraishi <i>et Yosida</i> (1972)	Témoins	6	300	72	2	0,67	0	0	+	+
	Malades "Itai-Itai"	7	350	72	125	35,71	42	12,00		
Deknudt <i>et al.</i> (1973)	Témoins	5	900	48	16	1,78	0	0	+	+
	Industrie du zinc (asturnisme)	14	4 400	48	103	2,34	28	0,64		
O' Riordan <i>et Evans</i> (1974)	Témoins intérieurs	31	3 100	48	149	4,81	4	0,13	-	-
	Témoins extérieurs	285	3 107	48	78	2,51	2	0,06		
	Brûleurs de peinture	35	3 500	48	189	5,40	3	0,09		
Bui <i>et al.</i> (1975)	Témoins	4	380	72	23	6,05	0	0	-	+
	Malades "Itai-Itai"***	4	396	72	22	5,56	5	1,28		
	Témoins	3	300	48	9	3,00	1	0,33		
	Fabrique de batteries	5	489	48	12	2,40	0	0		
	Témoins	3	300	72	12	4,00	3	1,00		
	Fabrique de batteries	5	500	72	7	1,40	4	0,80		
Deknudt <i>et Léonard</i> (1975)	Témoins	12	2 400	48	77	3,21	3	0,13	+	+
	Industrie du zinc	35	7 000	48	162	2,31	56	0,80		
	Service du cadmium	23	4 600	48	71	1,54	42	0,91		
	Service des laminiers	12	2 400	48	91	3,79	14	0,58		
Schwanitz <i>et al.</i> (1975)*	Témoins	?			?		?		+	?
	Usine de plombs de chasse	105	5 250	72						
Shiraishi (1975)	Témoins	9	2 200	50	54	2,45	0	0	+	+
	Malades "Itai-Itai"	7	1 600	50	505	31,56	68	4,25		
	Témoins	9	5 080	72	71	1,40	0	0		
	Malades "Itai-Itai"	12	4 571	72	1 765	38,61	229	5,01		
Bauchinger <i>et al.</i> (1976)	Témoins	15	1 850	48	53	3,21	1	0,06	+	+
	Industrie du zinc	24	4 800	48	465	9,68	17	0,35		
Forni <i>et al.</i> (1976)	Témoins	11	1 075	70	50	4,65	2	0,19	+	-
	Fabrique de batteries	52	5 118	70	486	9,50	18	0,35		
Bauchinger <i>et al.</i> (1977)	Témoins	20	4 200	48	97	2,31	2	0,05	-	-
	Enfants contaminés (Usine de plomb)	30	6 000	48	148	2,47	1	0,01		
Deknudt <i>et al.</i> (1977)	Usine d'étain	7	1 400	48	59	4,21	0	0	+	+
	Fonderie de plomb	16	3 200	48	70	2,18	19	0,59		

*Classification des aberrations d'après Bückton.

**Deux cellules avec de nombreuses aberrations graves.



l'usine de Liège, les personnes étudiées travaillaient dans une atmosphère contenant un mélange de plomb, de cadmium et de zinc. S'il en va de même pour un certain nombre des autres études reprises dans le tableau XXXI il est évident par contre que pour les policiers étudiés par BAUCHINGER et al. [1972] ou les personnes du chantier naval examinées par O'RIORDAN et EVANS [1974] les probabilités d'être intoxiqués par le zinc et le cadmium étaient pratiquement nulles.

Un deuxième facteur dont il faut tenir compte est le niveau d'exposition. Dans la plupart des cas nous nous sommes basés sur le taux de plomb dans le sang ou dans l'urine pour estimer le niveau d'intoxication et par conséquent nous avons pu choisir et classer les travailleurs. Bien des auteurs, par contre, n'ayant pas procédé à ce contrôle élémentaire supposaient erronément que si des personnes travaillaient dans un milieu contaminé par des métaux lourds elles devaient automatiquement être intoxiquées.

Dans certains cas également il est probable que c'est abusivement que l'on a attribué à un métal donné la responsabilité des anomalies observées. L'exemple de la maladie "Itai-Itai" est symptomatique à cet égard. S'il est certain que le cadmium constituait l'agent toxique le plus abondant, ces personnes étaient également contaminées par une série d'autres métaux dont on a arbitrairement négligé le rôle éventuel.

Il faut également attirer l'attention sur le fait que bien souvent on observe des interférences, antagonismes ou synergies, entre différentes substances chimiques. On a aussi démontré qu'il existait un antagonisme entre le zinc et le cadmium [PARIZEK, 1957]. Quant à la maladie "Itai-

Itai" il est probable que certains des effets observés sont dus aux similitudes existant entre les métabolismes du cadmium et du calcium. Ces cas d'intoxication ont été observés au Japon parmi des paysans cultivant des rizières irriguées par la rivière Jintsu. Les eaux de cette rivière (mines de zinc), étaient contaminées par divers métaux et notamment par du cadmium. C'est chez les femmes ayant atteint l'âge de la ménopause et ayant eu de nombreuses grossesses que les effets ont été les plus marqués. On peut penser que chez ces personnes la balance en calcium était devenue tellement négative que les métaux lourds ont eu un effet plus prononcé et ont provoqué plus d'anomalies graves que chez les travailleurs de la métallurgie du zinc. STEFFENSEN [1955] a d'ailleurs pu démontrer qu'un manque d'ions de calcium peut produire une fragmentation chromosomique dans *Tradescantia* et il n'est donc pas exclu que ce fait puisse être co-responsable de la production d'anomalies graves rencontrées chez l'homme professionnellement exposé aux métaux lourds.

Ces différentes considérations illustrent la complexité du problème et explique les raisons pour lesquelles, dans le chapitre V, nous avons voulu définir le rôle exact des différents métaux lourds dans la production des anomalies chromosomiques chez ces travailleurs.

Résumé et conclusions du Chapitre IV

Nos observations cytogénétiques ont porté sur des ouvriers de l'industrie du zinc travaillant dans une usine de la région liégeoise. Une étude préalable du passé médical et professionnel de ces personnes nous a permis d'écarter tous ceux qui avaient reçu des traitements médicaux par radiations ionisantes ou doses massives de médicaments ainsi que les travailleurs ayant précédemment assumé des tâches impliquant l'exposition à des substances chimiques susceptibles de produire des anomalies chromosomiques.

Nous avons finalement retenu 49 personnes : 14, qui provenaient de différents services de l'usine, présentaient des taux anormalement élevés de plomb urinaire ou sanguin ce qui n'était pas le cas pour les 35 autres. De ces derniers 23 étaient employés dans le service du cadmium et 12 dans le service des laminoirs. Un total de 37 personnes sélectionnées sur les mêmes critères que ceux utilisés pour les ouvriers et n'ayant pas été exposés à l'atmosphère de l'usine ont été choisis dans les services administratifs de l'entreprise (17) ou dans des services extérieurs (20). Trente six ouvriers sur les 49 examinés présentaient des anomalies chromosomiques graves (échange chromatidique, désérialisation du matériel chromosomique, translocation, anneau centrique, chromosome dicentrique), le nombre total d'anomalies graves étant de 84 pour 11 400 cellules analysées. Nous avons rencontré 1 anomalie grave chez 3 des témoins appartenant au personnel de l'usine, sans que nous puissions y apporter une explication valable.

La comparaison de nos résultats et de ceux parus dans la littérature montre qu'il existe un certain nombre de contradictions apparentes dans les

conclusions des études épidémiologiques réalisées sur les travailleurs exposés aux métaux lourds. Ceci peut très probablement s'expliquer par l'hétérogénéité du matériel étudié, par les conditions et les niveaux variables d'exposition et par des antagonismes et synergies possibles entre les différents mutagènes potentiels présents dans l'environnement. Dans la plupart des cas également il est impossible d'identifier avec certitude l'agent responsable des anomalies chromosomiques graves qui ont été observées.

C'est pour répondre aux différentes questions que cette étude épidémiologique laissait en suspens que nous avons décidé d'effectuer dans des conditions strictes une série d'expériences, avec les différents métaux séparément ou en combinaison.

Chapitre V

RECHERCHES EXPERIMENTALES SUR LES EFFETS CYTOGENETIQUES DU ZINC, DU PLOMB ET DU CADMIUM

1. ETUDES *IN VITRO* SUR LES LYMPHOCYTES HUMAINS

1.1. Matériel et méthodes

Des lymphocytes humains provenant d'une même personne, de sexe masculin, ont été cultivés pendant 48 heures (première division cellulaire) ou 72 heures (seconde division cellulaire) dans du milieu Ham's F 10 [HAM, 1963] additionné de chlorure de zinc, d'acétate de plomb ou de chlorure de cadmium. Les concentrations de ces différents sels, inhibant l'activité mitotique, étaient respectivement 3×10^{-3} , 1×10^{-2} et 5×10^{-4} M. Nous avons ajouté 3 doses subtoxiques différentes de chaque sel (tableau XXXII) immédiatement après l'initiation de la culture ou 24 heures plus tard. Cent métaphases de chacune des cultures ont été analysées selon la procédure habituelle.

1.2. Résultats

L'index mitotique diminue avec l'augmentation de la concentration de chaque sel testé. Les cultures traitées à la concentration subtoxique la plus élevée de chaque sel ne se prêtaient pas à une analyse chromosomique, les divisions étant rares et/ou les chromosomes trop contractés. Les résul-

Tableau XXXII

Effets de différentes doses de métaux lourds administrés à des cultures de lymphocytes humains

Observations	Effets observés	Doses des sels étudiés (exprimées en môles)		
		Chlorure de zinc	Acétate de plomb	Chlorure de cadmium
Capacité de division des lymphocytes	Aucune division cellulaire	3×10^{-3}	1×10^{-2}	5×10^{-4}
	Index mitotique suffisant	3×10^{-4}	1×10^{-3}	5×10^{-5}
Aspect et nombre de mitoses	Cultures non analysables	$1,5 \times 10^{-3}$	$0,5 \times 10^{-2}$	$2,5 \times 10^{-4}$
	Cultures analysables	3×10^{-4}	1×10^{-3}	5×10^{-5}
		3×10^{-5}	1×10^{-4}	5×10^{-6}



tats de nos observations sont résumés dans les tableaux XXXIII à XXXV. Seules des lacunes ont été rencontrées dans les cultures témoins. Leur fréquence, tout comme d'ailleurs celle des cellules aneuploïdes, ne semble pas affecter par le traitement par les sels métalliques. Les fragments chromosomiques sont plus nombreux dans les cultures contaminées que chez les témoins, spécialement dans les cultures de 48 heures, sans cependant que cette différence soit significative. Dans les cultures, additionnées dès le début avec du chlorure de zinc à une concentration de 3×10^{-5} M, nous avons observé quelques anomalies graves et notamment des chromosomes dicentriques. L'analyse statistique (Chi-carré) que nous avons réalisée a démontré qu'il n'existait cependant pas, à cet égard, de différence significative entre ces cultures et les cultures témoins. La différence devenait néanmoins hautement significative si l'on comparait les cultures traitées au zinc à l'ensemble des cultures témoins et des cultures contaminées avec du plomb et du cadmium ($X^2 = 8,25$, $P = 0,004$).

1.3. Discussion et conclusions

Nos observations sur les cultures contaminées par le plomb confirment (tableau XXXVI) les résultats négatifs obtenus par d'autres auteurs sur des cellules de hamster de Chine [BAUCHINGER et SCHMID, 1972] et sur des lymphocytes humains [SCHMID et al., 1972 ; BEEK et OBE, 1974]. L'augmentation du taux d'aberrations "légères" (lacunes et fragments) signalée par SCHWANITZ et al. [1970] et BEEK et OBE [1974] peut être attribuée au fait que la durée de leurs cultures dépassait largement les 48 heures.

Tableau XXXIII
Analyse des cultures contaminées par le chlorure de zinc

Durée de la culture (en heures)	Dose de sel administrée (en moles)	Intervalle de temps entre la mise en culture et l'administration du sel (en heures)	Nombre de cellules analysées	Anomalies numériques		Anomalies de structure	Type et nombre d'aberrations de structure					
				Cellules aneuploïdes	Cellules en endreduplication		Aberration chromatidique	Aberration chromosomique	Lacune	Fragment	Dicentrique	
48	0	-	100	3	0	1	0	0	0	0	0	0
	3 · 10 ⁻⁴	0	100	1	0	2	0	0	0	0	0	0
	3 · 10 ⁻⁵	24	100	4	0	4	0	2	0	0	0	0
		0	100	4	0	3	0	0	0	0	1	0
		24	100	4	0	4	0	2	0	0	2	0
72	0	-	100	2	0	3	0	0	0	0	0	0
	3 · 10 ⁻⁴	0	100	3	0	0	0	0	0	0	0	0
	3 · 10 ⁻⁵	24	100	6	0	4	3	0	0	1	0	0
		0	100	4	0	6	3	0	0	0	0	2
		24	100	2	1	3	2	1	0	0	0	0



Tableau XXXIV
Analyse des cultures contaminées par l'acétate de plomb

Durée de la culture (en heures)	Dose de sel administrée (en moles)	Intervalle de temps entre la mise en culture et l'administration du sel (en heures)	Nombre de cellules analysées	Cellules aneuploïdes	Anomalies de structure	Type et nombre d'aberrations de structure			
						Aberration chromatidique		Aberration chromosomique	
						Lacune	Cassure	Lacune	Fragment
48	0	-	100	2	2	1	0	1	0
	1 . 10 ⁻³	0	100	3	3	0	1	0	2
		24	100	4	4	2	0	1	1
	1 . 10 ⁻⁴	0	100	3	0	0	0	0	0
		24	100	0	1	0	0	1	0
72	0	-	100	1	1	1	0	0	0
	1 . 10 ⁻³	0	100	2	0	0	0	0	0
		24	100	4	0	0	0	0	0
	1 . 10 ⁻⁴	0	100	4	1	1	0	0	0
		24	100	5	0	0	0	0	0

Tableau XXXV
Analyse des cultures contaminées par le chlorure de cadmium

Durée de la culture (en heures)	Dose de sel administrée (en mûles)	Intervalle de temps entre la mise en culture et l'administration du sel (en heures)	Nombre de cellules analysées	Cellules aneuploïdes	Anomalies de structure	Type et nombre d'aberrations de structure		
						Aberration chromatidique		Aberration chromosomique
						Lacune	Fragment	
48	0	-	100	3	2	2	0	0
	5.10-5	0	100	1	2	2	0	0
		24	100	1	4	4	0	0
	5.10-6	0	100	5	2	2	0	0
		24	100	0	2	1	1	1
72	0	-	100	1	1	1	0	0
	5.10-5	0	100	3	1	1	0	0
		24	100	2	4	3	1	1
	5.10-6	0	100	3	0	0	0	0
		24	100	1	3	2	1	1



Tableau XXXVI
Revue comparative des analyses chromosomiques effectuées sur des cellules exposées "in vitro" à l'acétate de plomb

Auteurs	Espèce étudiée	Type de cellules testées	Durée de la culture (heures)	Durée du traitement (heures)	Dose administrée (molarité)	Cellules analysées	Anomalies légères		Anomalies graves		Interprétation	
							Total	Par 100 cellules	Total	Par 100 cellules	Auteurs	Statistique
Schwenitz <i>et al.</i> (1970)	Homme	Lymphocyte	?	24	0	100	14	14	0	0	+	+
					10 ⁻⁴	100	64	64	2	2		
					10 ⁻⁵	100	45	45	4	4		
					10 ⁻⁶	100	51	51	1	1		
Bauchinger et Schmid (1972)	Hamster	Fibroblaste	46	24	0	750	15	2,0	7	0,93	-	-
					10 ⁻³	250	9	3,6	0	0		
					10 ⁻⁴	250	10	4,0	2	0,80		
					10 ⁻⁵	250	3	1,2	2	0,80		
					10 ⁻⁶	250	3	1,2	1	0,40		
Schmid <i>et al.</i> (1972)	Homme	Lymphocyte	48	24	0	400	9	2,25	1	0,25	-	-
					10 ⁻³	100	11	11,0	0	0		
					10 ⁻⁴	100	3	3	0	0		
					10 ⁻⁵	100	5	5	0	0		
					10 ⁻⁶	100	1	1	0	0		
				72	0	400	13	3,25	0	0		
					10 ⁻³	100	5	5	0	0		
					10 ⁻⁴	100	5	5	0	0		
					10 ⁻⁵	100	5	5	0	0		
					10 ⁻⁶	100	2	2	0	0		
Beek et Obe (1974)	Homme	Lymphocyte	48	48	0	900	?		2	0,22	+	-
					10 ⁻⁵	800	?		5	0,83		
				72	24	0	400	31	7,75	0		
Schwenitz <i>et al.</i> (1975)	Homme	Lymphocyte	72	24	0	50	4	8,0	0	0	-	-
					10 ⁻⁴	50	5	10,0	0	0		
					10 ⁻⁵	50	7	14,0	0	0		
DeKruudt et Deminatti (1978)	Homme	Lymphocyte	48	24	0	100	2	2	0	0	-	-
					10 ⁻³	100	4	4	0	0		
					10 ⁻⁴	100	1	1	0	0		
					10 ⁻³	100	3	3	0	0		
					10 ⁻⁴	100	0	0	0	0		
				48	0	100	1	1	0	0		
					10 ⁻³	100	0	0	0	0		
					10 ⁻⁴	100	1	1	0	0		
					10 ⁻³	100	0	0	0	0		
					10 ⁻⁴	100	1	1	0	0		
72	0	100	1	1	0	0						
	10 ⁻³	100	0	0	0	0						
	10 ⁻³	100	0	0	0	0						
	10 ⁻³	100	1	1	0	0						
	10 ⁻⁴	100	1	1	0	0						

Nos résultats avec le cadmium concordent (tableau XXXVII) avec ceux de PATON et ALLISON [1972] sur les lymphocytes et les fibroblastes humains. Il convient cependant de signaler que dans leur expérience la dose toxique de chlorure de cadmium (5×10^{-8} M) était beaucoup plus basse que dans la nôtre (5×10^{-4} M). Nous n'avons pu apporter aucune explication satisfaisante à la présence de chromosomes dicentriques signalée par SHIRAISHI et al. [1972] dans des cultures de lymphocytes contaminées par du sulfure de cadmium, d'autant plus que selon FISHER [1975] la composition anionique n'aurait pas d'influence. Les illustrations présentées par ces auteurs à l'appui de leur affirmation sont d'une qualité tellement médiocre qu'on doit en déduire que leurs conclusions sont simplement dues à des erreurs d'interprétation. Les auteurs parlent d'ailleurs eux-mêmes de chromosomes "ressemblant" à des dicentriques. Des aberrations chromosomiques "légères" ont néanmoins été observées dans des pointes de racines de *Vicia faba*, poussant dans une solution de nitrate de cadmium [OEHLKERS, 1953], dans une lignée cellulaire de hamster de Chine traitée au sulfate de cadmium [BAUCHINGER et RÖHR, 1975] et dans des cellules ovariennes de hamster de Chine traitées au chlorure de cadmium [DEAVEN et CAMPBELL, 1976]. Signalons encore que certains "changements cytologiques" non définis ont été trouvés par YAMAGAMI et al. [1971] dans des cultures de fibroblastes traitées au chlorure de cadmium.

Contrairement au plomb et au cadmium, le zinc est essentiel pour la fonction et/ou la structure de plusieurs enzymes et, dans l'ADN, est lié aux groupements phosphates [VALLEE et WACKER, 1970]. Certains composés de zinc peuvent, d'ailleurs, provoquer *in vitro* une transformation lymphocytaire similaire à celle due à la stimulation par la phytohémagglutine





Tableau XXXVII
Revue comparative des analyses chromosomiques effectuées *in vitro* à des sels de cadmium

Auteurs	Espèce étudiée	Type de cellules testées	Sel administré	Durée de la culture (heures)	Durée du traitement (heures)	Dose administrée (molarité)	Cellules analysées	Anomalies légères		Anomalies graves		Interprétation Statistique
								Total	Par 100 cellules	Total	Par 100 cellules	
Paton et Allison (1972)	Homme	Leucocyte	Chlorure	72	0	0	200	0	0	0	0	-
					24	0	200	0	0	0		
					48	0	200	0	0	0		
					72	0	200	0	0	0		
Shiraishi et al. (1972)	Homme	Fibroblaste	Chlorure	X	0	100	0	0	0	0	-	
					24	?	0	0	0			
Shiraishi et al. (1972)	Homme	Leucocyte	Sulfure	72	0	50	0	0	0	0	+	
					4	50	19	38	7	14		
					8	50	21	42	9	18		
Deaven et Campbell (1976)	Hamster	Cellule ovarienne	Chlorure	X	0	?	?	?	?	?	?	
					12	?	?	?	?	?		
					12	?	?	?	?	?		
Röhr et Bauchinger (1976)	Hamster	Fibroblaste	Sulfate	X	0	1 000	11	1,10	2	0,20	+	
					1	6 500	481	7,40	356	5,48		
Deknudt et Deminatti (1978)	Homme	Leucocyte	Chlorure	48	0	100	2	2	0	0	-	
					24	100	4	4	0	0		
						100	2	2	0	0		
					48	100	2	2	0	0		
						100	2	2	0	0		
						100	2	2	0	0		
Deknudt et Deminatti (1978)	Homme	Leucocyte	Chlorure	72	0	100	1	1	0	0	-	
					48	100	4	4	0	0		
						100	3	3	0	0		
					72	100	1	1	0	0		
						100	3	3	0	0		
						100	3	3	0	0		

X Culture à long terme (plusieurs semaines).

[KIRCHNER et RÜHL, 1970]. Le zinc est aussi impliqué dans les différents stades de la division cellulaire [FALCHUK et al., 1975]. Nos résultats suggèrent que des concentrations de zinc (3×10^{-3} M) 10 fois plus élevées que celles signalées par KIRCHNER et RÜHL [1970] sont cytotoxiques et qu'une concentration 100 fois plus basse (3×10^{-5} M) peut causer des aberrations chromosomiques graves (dicentriques). Il est à noter que ce type d'aberration est différent des perturbations dans la différenciation de la matrice chromosomiale et la spiralisation des chromosomes signalées chez *Vicia faba* après traitement au zinc [HERICH, 1969a ; b], et que nous avons d'ailleurs rencontrées dans notre étude épidémiologique sur les travailleurs (voir chapitre IV). D'autre part, le "Ziram", un fongicide à base de zinc, "zinc dimethyldithiocarbamate", provoque des aberrations chromosomiques dans des cultures de lymphocytes humains [PILINSKAYA, 1971].

Nos résultats montrent que, du moins pour les concentrations testées, seul le zinc peut produire *in vitro* des anomalies chromosomiques. Comme nous l'avons déjà dit précédemment ce n'est que lorsque les cultures contaminées par le zinc sont comparées à l'ensemble des cultures témoins et des cultures contaminées par le plomb et le cadmium que les différences sont significatives. Cette façon de procéder se justifie par le fait que le sang de toutes les cultures provenait du même donneur. Les études *in vitro* permettent d'étudier les effets de différents traitements sur un matériel homogène contrôlable au départ. Le système ne permet cependant pas d'étudier les effets d'une exposition chronique et ne tient évidemment pas compte des modifications possibles dues au métabolisme. C'est pour ces raisons que nous avons complété nos études *in vitro* par des observations *in vivo* sur

des mammifères tels que la souris et le singe.

2. EXPERIENCES REALISEES *IN VIVO* SUR LA SOURIS

2.1. Matériel et méthodes

Des souris mâles, de race C57B1, âgées de 8 semaines ont reçu pendant un mois une nourriture normale ou une nourriture pauvre en calcium à laquelle nous avons ajouté les différents sels étudiés dans l'expérience précédente. Cette durée d'exposition de la souris correspond pour l'homme à environ 3 ans. La nourriture normale et celle pauvre en calcium contenaient respectivement 1,1 % et 0,03 % de calcium. Dans un essai préliminaire nous avons pu établir que pour les souris recevant une nourriture pauvre en calcium, les doses de métaux étudiés qui provoquaient la mortalité de 50 % des individus en 30 jours étaient de 0,5 g % de zinc, de 0,5 g % de plomb et de 0,06 g % de cadmium. Pour nos expériences nous avons dès lors utilisé ces concentrations et des concentrations moitié moindres pour les animaux soumis aux 3 métaux simultanément. Nous avons employé un total de 250 animaux répartis en 10 groupes. Dix survivants de chaque groupe ont été sacrifiés un mois plus tard, chaque animal étant soigneusement pesé et le sang étant prélevé, lorsque la chose était possible, dans le but de déterminer le taux de calcium dans le sérum. Les chromosomes des cellules de la moelle ont été préparées selon la technique décrite antérieurement et nous avons analysé 50 métaphases par individu (500 par groupe).

2.2. Résultats

L'addition de sels métalliques à la nourriture entraîne une perte de poids des animaux traités. Cet effet est le plus marqué chez les animaux recevant une nourriture contaminée par un mélange des trois sels. Une carence en calcium accentue encore cet effet chez les animaux recevant une nourriture contaminée mais a également une influence marquée sur les animaux témoins. Dans la plupart des cas les survivants des groupes recevant une nourriture carencée en calcium étaient dans un état de santé lamentable, souffraient d'anémie et leurs os (fémurs) étaient devenus extrêmement fragiles. Une carence en calcium n'entraîne pas l'apparition d'anomalies chromosomiques de structure ou de nombre chez les souris témoins (tableau XXXIX). Si par contre cette carence va de paire avec une contamination par le zinc (tableau XXXXI), le plomb (tableau XXXXIII) ou un mélange des trois sels métalliques (tableau XXXXVII) elle entraîne l'apparition d'anomalies chromosomiques graves dans les cellules somatiques. Il est intéressant de noter que nous n'avons pas observé d'anomalies chez les animaux recevant une nourriture carencée en calcium et additionnée de cadmium (tableau XXXXV). L'administration séparée ou combinée de ces sels en même temps qu'une diète normale n'a pas provoqué un effet aussi marqué (tableaux XXXX, XXXXII, XXXXIV et XXXXVI). Les analyses statistiques appuyent nos conclusions.

1. En ce qui concerne le poids des animaux les différences sont significatives au niveau de 0,01
 - a) pour les animaux ayant reçu une nourriture normale additionnée de zinc ($t = 17,90 \pm 0,23$), de plomb ($t = 24,40 \pm 0,22$), de cadmium ($t = 17,65 \pm 0,37$) et du mélange des 3 métaux ($t = 16,50 \pm 0,39$) ;

Tableau XXXVIII
Analyse chromosomique des souris soumises à un régime normal

Animal	Poids (grammes)	Cellules analysées	Cellules aneuploïdes	Cellules avec aberrations de structure	Type et nombre d'anomalies de structure observées	
					Aberration chromatidique Lacune	Aberration chromosomique Fragment
1	30,0	50	1	2	0	0
2	30,0	50	0	1	0	1
3	30,5	50	2	2	1	1
4	30,0	50	1	0	0	0
5	29,5	50	0	1	1	0
6	29,5	50	0	1	0	1
7	30,0	50	2	0	0	0
8	30,5	50	1	0	0	0
9	29,5	50	3	1	1	0
10	29,5	50	2	1	1	0
Total	299,0	500	12	9	6	3
Moyenne	29,90 ± 0,12		1,20 ± 0,33	0,90 ± 0,23	0,60 ± 0,22	0,30 ± 0,15



Tableau XXXIX
Analyse chromosomique des souris soumises à un régime pauvre en calcium

Animal	Poids (grammes)	Cellules analysées	Cellules aneuploïdes	Cellules avec aberrations de structure	Type et nombre d'anomalies de structure observées	
					Aberration chromatidique	Aberration chromosomique
					Lacune	Fragment
1	22,5	50	0	0	0	0
2	21,0	50	2	0	0	0
3	22,5	50	1	0	0	0
4	22,0	50	3	2	2	0
5	21,0	50	2	3	2	2
6	21,0	50	1	4	4	0
7	22,0	50	3	0	0	0
8	20,5	50	2	0	0	0
9	23,0	50	1	1	1	0
10	22,5	50	1	0	0	0
Total	218,0	500	16	10	9	2
Moyenne	21,80 ± 0,27		1,60 ± 0,31	1,00 ± 0,47	0,90 ± 0,43	0,20 ± 0,20



Tableau XXXX
Analyse chromosomique des souris soumises à un régime normal additionné de chlorure de zinc

Animal	Poids (grammes)	Cellules analysées	Cellules aneuploïdes	Cellules avec aberrations de structure	Type et nombre d'anomalies de structure observées			
					Aberration chromatidique		Aberration chromosomique	
					Lacune	Cassure	Fragment	Dicentrique
1	17,5	50	0	1	0	1	0	
2	18,0	50	2	1	0	1	0	
3	17,0	50	0	3	0	0	2	
4	18,5	50	2	2	0	0	0	
5	19,0	50	2	2	0	0	0	
6	17,0	50	3	1	0	0	0	
7	19,0	50	1	2	0	0	0	
8	18,0	50	1	0	0	0	0	
9	17,5	50	1	2	1	0	0	
10	17,5	50	2	0	0	0	0	
Total	179,0	500	14	14	9	1	2	
Moyenne	17,90 ± 0,23		1,40 ± 0,31	1,40 ± 0,31	0,90 ± 0,28	0,10 ± 0,10	0,20 ± 0,13	
							0,20 ± 0,20	

BUS
LILLE

Tableau XXXXI
Analyse chromosomique des souris soumises à un régime pauvre en calcium additionné de chlorure de zinc

Animal	Poids (grammes)	Cellules analysées	Cellules aneuploïdes	Cellules avec aberrations de structure	Type et nombre d'anomalies de structure observées			
					Aberration chromatidique		Aberration chromosomique	
					Lacune	Lacune	Fragment	Dicentrique
1	12,0	50	0	3	0	0	0	
2	12,0	50	5	2	0	0	1	
3	11,5	50	3	2	0	2	0	
4	12,0	50	0	7	0	0	2	
5	14,0	50	3	2	1	0	0	
6	12,5	50	1	1	0	0	1	
7	11,0	50	1	0	0	0	0	
8	12,0	50	2	2	1	0	0	
9	12,0	50	2	2	1	0	1	
10	11,5	50	2	3	1	0	1	
Total	120,5	500	19	25	16	2	3	6
Moyenne	12,05 ± 0,25		1,90 ± 0,48	2,50 ± 0,58	1,60 ± 0,67	0,20 ± 0,13	0,30 ± 0,21	0,60 ± 0,22





Tableau XXXXII
Analyse chromosomique des souris soumises à un régime normal additionné d'acétate de plomb

Animal	Poids (grammes)	Cellules analysées	Cellules aneuploïdes	Cellules avec aberrations de structure	Type et nombre d'anomalies de structure observées
					Aberration chromatidique
					Lacune
1	23,5	50	4	1	1
2	23,0	50	4	1	1
3	24,5	50	3	0	0
4	25,0	50	5	0	0
5	24,0	50	1	0	0
6	25,0	50	1	0	0
7	25,0	50	1	2	2
8	24,5	50	3	1	1
9	24,5	50	1	1	1
10	25,0	50	6	1	2
Total	244,0	500	29	7	8
Moyenne	24,40 ± 0,22		2,90 ± 0,59	0,70 ± 0,21	0,80 ± 0,25

Tableau XXXXIII

Analyse chromosomique des souris soumises à un régime pauvre en calcium additionné d'acétate de plomb

Animal	Poids (grammes)	Cellules analysées	Cellules aneuploïdes	Cellules avec aberrations de structure	Type et nombre d'anomalies de structure observées					
					Aberration chromatidique		Aberration chromosomique			
					Lacune	Echange	Lacune	Fragment	Translocation	Dicentrique
1	11,0	50	0	3	3	0	0	0	0	0
2	9,5	50	1	1	1	0	0	0	0	0
3	12,0	50	2	3	2	0	0	0	1	0
4	9,5	50	2	0	0	0	0	0	0	0
5	12,0	50	2	3	0	0	1	0	0	3
6	11,0	50	4	4	2	1	0	0	0	1
7	10,0	50	0	4	2	0	0	2	0	0
8	10,0	50	5	1	0	0	0	0	0	1
9	8,0	50	3	1	0	0	0	1	0	0
10	10,5	50	2	6	4	0	0	1	1	0
Total	103,5	500	21	26	14	1	1	4	2	5
Moyenne	10,35 ± 0,39		2,10 ± 0,50	2,60 ± 0,58	1,40 ± 0,45	0,10 ± 0,10	0,10 ± 0,10	0,40 ± 0,22	0,20 ± 0,13	0,50 ± 0,31



Tableau XXXXIV
Analyse chromosomique des souris soumises à un régime normal additionné de chlorure de cadmium

Animal	Poids (grammes)	Cellules analysées	Cellules aneuploïdes	Cellules avec aberrations de structure	Type et nombre d'anomalies de structure observées		
					Aberration chromatidique		Aberration chromosomique
					Lacune	Lacune	
1	16,0	50	4	0	0	0	
2	18,0	50	4	0	0	0	
3	19,5	50	2	1	0	0	
4	19,0	50	1	1	0	0	
5	17,0	50	1	1	0	0	
6	18,0	50	1	2	0	0	
7	17,0	50	3	2	0	1	
8	17,5	50	0	1	0	0	
9	18,5	50	1	1	0	0	
10	16,0	50	1	2	1	0	
Total	176,5	500	18	11	9	1	
Moyenne	17,65 ± 0,37		1,80 ± 0,44	1,10 ± 0,23	0,90 ± 0,18	0,10 ± 0,10	0,10 ± 0,10



Tableau XXXXV
Analyse chromosomique des souris soumises à un régime pauvre en calcium additionné de chlorure de cadmium

Animal	Poids (grammes)	Cellules analysées	Cellules aneuploïdes	Cellules avec aberrations de structure	Type et nombre d'anomalies de structure observées	
					Aberration chromatidique Lacune	Aberration chromosomique Dicentrique
1	13,0	50	2	1	1	0
2	14,0	50	0	2	1	1
3	13,5	50	2	0	0	0
4	13,0	50	2	0	0	0
5	15,0	50	2	0	0	0
6	15,5	50	3	1	1	0
7	15,0	50	1	1	1	0
8	14,5	50	0	0	0	0
9	14,0	50	2	2	2	0
10	13,5	50	1	1	1	0
Total	141,0	500	15	8	7	1
Moyenne	14,10 ± 0,28		1,50 ± 0,31	0,80 ± 0,25	0,70 ± 0,21	0,10 ± 0,10





Tableau XXXXVI

Analyse chromosomique des souris soumises à un régime normal additionné de zinc, de plomb et de cadmium

Animal	Poids (grammes)	Cellules analysées	Cellules aneuploïdes	Cellules avec aberrations de structure	Type et nombre d'anomalies de structure observées		
					Aberration chromatidique		Aberration chromosomique
					Lacune	Lacune	Translocation
1	17,0	50	2	0	0	0	
2	16,5	50	1	0	0	0	
3	16,5	50	0	0	0	0	
4	17,0	50	1	1	0	0	
5	18,5	50	4	5	2	1	
6	16,5	50	3	4	3	0	
7	15,5	50	3	1	1	0	
8	15,0	50	3	4	4	0	
9	18,0	50	4	2	2	0	
10	14,5	50	2	2	3	0	
Total	165,0	500	23	19	16	3	1
Moyenne	16,5 ± 0,39		2,30 ± 0,42	1,90 ± 0,59	1,60 ± 0,45	0,30 ± 0,21	0,10 ± 0,10

Tableau XXXVII

Analyse chromosomique des souris soumises à un régime pauvre en calcium additionné de zinc, de plomb et de cadmium

Animal	Poids (grammes)	Cellules analysées	Cellules aneuploïdes	Cellules avec aberrations de structure	Type et nombre d'anomalies de structure observées					
					Aberration chromatidique		Aberration chromosomique			
					Lacune	Lacune	Fragment	Dés spiralisation	Translocation	Dicentrique
1	11,0	50	1	2	1	1	0	0	1	1
2	11,5	50	4	5	3	0	1	0	0	1
3	13,0	50	2	1	1	0	0	0	0	0
4	13,0	50	2	1	1	0	0	0	0	0
5	12,5	50	1	1	0	0	0	0	0	1
6	12,0	50	6	2	1	0	1	0	0	0
7	12,0	50	2	4	5	0	1	0	0	0
8	11,5	50	3	1	1	0	0	0	1	0
9	13,0	50	0	0	0	0	0	0	0	0
10	12,0	50	2	4	1	0	0	2	0	1
Total	121,5	500	23	21	14	1	3	2	2	4
Moyenne	12,15 ± 0,22		2,30 ± 0,54	2,10 ± 0,53	1,40 ± 0,48	0,10 ± 0,10	0,30 ± 0,15	0,20 ± 0,20	0,20 ± 0,13	0,40 ± 0,16



b) pour les animaux ayant reçu une nourriture carencée en calcium additionnée de zinc ($t = 12,05 \pm 0,25$), de plomb ($t = 10,35 \pm 0,39$), de cadmium ($t = 14,10 \pm 0,28$) et du mélange des 3 métaux ($t = 12,15 \pm 0,22$).

2. En ce qui concerne la production des chromosomes dicentriques les différences sont significatives au niveau de 0,05 pour les animaux recevant uniquement une nourriture carencée en calcium additionnée de zinc ($X^2 = 1,20$), de plomb ($X^2 = 1,00$) et du mélange des trois métaux ($X^2 = 0,86$).

2.3. Discussion et conclusions

Nos résultats confirment que l'exposition à un taux excessif de métaux lourds tels que le zinc, le plomb et le cadmium diminue la croissance, l'ossification et la formation de l'hémoglobine [VALLEE, 1959 ; FRIBERG et al., 1974 ; NORDBERG, 1976]. Ils démontrent également que ces effets sont aggravés chez les animaux recevant une nourriture carencée en calcium, ce qui paraît évidemment normal étant donné que le calcium est un élément indispensable pour la croissance [ADAMS, 1949].

Nos observations démontrent que le cadmium, seul ou combiné à une carence en calcium (tableaux XXXIV et XXXV) est incapable de produire "*in vivo*" des anomalies chromosomiques dans les cellules somatiques de la souris. Ceci nous permet donc d'étendre à ce type de cellules les conclusions négatives des travaux de GILLIAVOD et LEONARD [1975] sur les cellules reproductrices des souris mâles et de SHIMADA et al. [1976] sur les cellules reproductrices femelles (tableau XXXVIII).

Tableau XXXXVIII

Revue comparative des analyses chromosomiques effectuées chez la souris exposée *in vivo* au chlorure de cadmium

Auteurs	Type de cellules analysées	Durée du traitement	Dose de métal administrée (%)	Animaux utilisés	Cellules analysées	Anomalies légères		Anomalies graves		Interprétation	
						Total	par 100 cellules	Total	par 100 cellules	Auteurs	Statistique
Gilliavod et Léonard, 1975	Spermatocyte	0 m	0	10	1 000	0	0	0	0	-	-
		3 m	0,3*	10	1 000	0	0	0	0		
		3 m	1,0*	10	1 000	0	0	0	0		
		3 m	1,7*	10	1 000	0	0	0	0		
Shimada <u>et al.</u> (1976)	Oocyte	0 h	0	25	199	0	0	0	0	-	-
		12 h	1,7*	25	155	0	0	0	0		
		12 h	3,4*	25	126	0	0	0	0		
Deknudt et Gerber (1978)	Moelle	0 m	0	10	500	9	1,80	0	0	-	-
		1 m	0,06	10	500	11	2,20	0	0		
		0 m	0**	10	500	11	2,20	0	0		
		1 m	0,06**	10	500	7	1,40	1	0,20		

*Injection intrapéritonéale en mg par kg.

** Régime pauvre en calcium.



L'absence d'anomalies chromosomiques dans la moelle des animaux recevant une nourriture équilibrée en calcium et contaminée par du plomb confirme les résultats (tableau XXXXIX) de LEONARD et al. [1972] sur les chromosomes des cellules somatiques et reproductrices de la souris mâle, ceux de JACQUET et al. [1977] sur les cellules de la moelle et ceux de KENNEDY et ARNOLD [1971] sur la létalité dominante induite dans les cellules postmeiotiques chez la souris mâle. Les résultats positifs de VARMA et al. [1974] sur la létalité dominante ne sont pas convaincants, vu le nombre réduit d'animaux utilisés. Selon MURD et GOYER [1969] les aberrations légères (lacunes et fragments) observées dans la moelle osseuse de souris traitées au plomb constitueraient la preuve que le plomb est capable de produire des anomalies chromosomiques *in vivo* alors que JACQUET et al. [1977] qui confirment l'apparition de telles anomalies ne les considèrent cependant pas leur incidence comme démonstrative d'un tel effet.

Deux fongicides à base de zinc, le "Zineb", "zinc ethylene bis-dithiocarbamate" et le "Ziram", "zinc dimethyldithiocarbamate", produisent des aberrations chromatidiques et chromosomiques dans les lymphocytes humains après exposition soit *in vitro* [PILINSKAYA, 1971] soit *in vivo* [PILINSKAYA, 1970 ; MARTSON et PILINSKAYA, 1971 ; YODER et al., 1973 ; PILINSKAYA, 1974]. Une des rares études sur la capacité du zinc à produire des anomalies chromosomiques a été réalisée par HERICH [1969 a ; b] chez *Vicia faba*. Cet auteur a surtout observé des perturbations dans la différenciation et la spiralisation des chromosomes. Encore que les anomalies que nous avons observées soient d'un autre type on peut donc dire que les résultats de nos études *in vitro* aussi bien que ceux de nos expériences *in vivo* sur des animaux

Tableau XXXIX
Revue comparative des analyses chromosomiques effectuées chez des mammifères exposés *in vivo* à l'acétate de plomb

Auteurs	Espèce étudiée	Type de cellules analysées	Durée du traitement (mois)	Dose de métal administrée (%)	Animaux utilisés	Cellules analysées	Anomalies légères		Anomalies graves		Interprétation		
							Total	Par 100 cellules	Total	Par 100 cellules	Auteurs	Statistique	
Muro et Gover (1969)	Souris	Moelle	0 1/2	0 0,55	20 20	145 166	4 57	2,76 34,34	0 0	0 0	+	-	
Léonard <i>et al.</i> (1972)	Souris	Moelle	0	0	12	600	0	0	0	0			
			9	0,00001	6	300	0	0	0	0			
				0,00010	6	300	0	0	0	0			
				0,00100	6	300	0	0	0	0			
				0,01000	6	300	0	0	0	0			
				0,10000	6	300	0	0	0	0			
				0	12	1200	1	0,08	0	0			
				9	0,00001	6	600	0	0	0	0		
					0,00010	6	600	0	0	0	0		
					0,00100	6	600	0	0	0	0		
Deknudt <i>et al.</i> (1977)	Singe* (<i>Macaca irus</i>)	Leucocyte	0	0	2	400	0	0	0	0			
			3	0,8	2	400	5	1,25	0	0			
				3,3	2	400	6	1,50	0	0			
				8,2	2	400	4	1,00	0	0			
				3,3**	2	400	5	1,25	0	0			
			0	0	2	400	5	1,25	0	0			
			10	0,8	2	400	6	1,50	0	0			
				3,3	2	400	12	3,00	0	0			
				8,2	2	400	11	2,75	1	0,25			
				3,3**	2	400	15	3,75	3	0,75	+	+	
			0	0	2	400	0	0	0	0			
			16	0,8	2	200	6	3,00	1	0,50			
				3,3	2	0	0	0	0	0			
	8,2	2	200	5	2,50	0	0						
	3,3**	2	400	12	3,00	4	1,00	+	+				
Jacquet <i>et al.</i> (1977)	Souris	Moelle	0	0	10	1000	33	3,30	0	0			
			1	0,25	10	1000	24	2,40	0	0			
				0,50	10	980	32	3,27	0	0			
				1,00	10	1000	40	4,00	0	0			
			3	0,25	5	450	12	2,67	0	0			
Deknudt et Gerber (1978)	Souris	Moelle	0	0	10	500	9	1,80	0	0			
			1	0,5	10	500	8	1,60	0	0			
			0	0**	10	500	11	2,20	0	0			
			1	0,5**	10	500	19	3,80	8	1,60	+	+	

*Doses administrées par jour exprimées en mg.

**Régime pauvre en calcium.



recevant une nourriture carencée en calcium et contaminée en zinc paraissent logiques.

Comme on pouvait s'y attendre, compte tenu des résultats enregistrés avec les 3 métaux pris séparément, la combinaison du zinc, du plomb et du cadmium à une nourriture carencée en calcium a entraîné l'apparition d'anomalies chromosomiques. Il est intéressant de remarquer que cette combinaison reproduit assez bien ce que l'on rencontre dans les usines encore que les proportions des différents métaux soient évidemment différentes de même que les voies de contamination.

Quoiqu'il en soit notre étude a permis de dégager le rôle extrêmement important joué par la carence en calcium ainsi que la synergie existant entre celle-ci et la contamination par le zinc et le plomb dans la production des anomalies chromosomiques.

Une étude réalisée sur une espèce plus proche de l'homme, le singe cynomolgus, nous a permis de vérifier l'existence de cette synergie entre la carence en calcium et la contamination par le plomb.

3. CONTAMINATION DES SINGES *IN VIVO*

3.1. Matériel et méthodes

Pour cette expérience, nous avons utilisé le singe cynomolgus (*Macaca irus*) qui possède 42 chromosomes. Après une quarantaine de 2 mois, 10 jeunes mâles, d'un poids moyen de 2,8 kg, ont été répartis en 5 groupes expérimentaux de 2 animaux chacun. La composition des régimes (normal et

pauvre en calcium) est représentée dans le tableau XXXXX. Les singes ont reçu le traitement (tableau XXXXXI) le matin dans les 20 premiers millilitres de leur eau de boisson pendant 6 jours de la semaine. Ils avaient libre accès à l'eau de boisson durant la journée mais pas la nuit. Les animaux sont restés sous traitement à l'institut Pasteur de Lyon (France) depuis le mois de juillet 1975 jusqu'au mois de novembre 1976. Des échantillons de sang (10 ml) ont été prélevés après 3, 10 et 16 mois de traitement à la veine fémorale sous des conditions aseptiques. Ils ont été envoyés immédiatement par avion à Mol de façon à ce que le délai entre l'échantillonnage et l'initiation des cultures et les analyses de plomb sanguin ne dépasse pas les 24 heures. De chaque animal 2 spécimens de 0,5 ml de sang ont été cultivés pendant 48 heures sous des conditions standardisées. De chaque culture, 100 métaphases (200 par singe) ont été analysées pour la présence d'anomalies numériques et structurelles. Le taux de plomb sanguin a été déterminé après dilution au Triton X au moyen d'un spectromètre d'absorption atomique Perkin Elmer 400 muni d'une lampe de correction au deutérium.

3.2. Résultats

La concentration du plomb dans le sang augmente rapidement avec la dose administrée mais ne semble pas cependant proportionnelle à celle-ci. C'est dans le groupe recevant 6 mg d'acétate de plomb chaque jour en même temps qu'un régime pauvre en calcium que nous avons trouvé le taux de plomb sanguin le plus élevé, dépassant même celui du groupe traité avec 15 mg par jour. Chez les témoins le taux de plomb sanguin est toujours resté bien en dessous de 30 $\mu\text{g} \%$, tandis que pour les singes traités il s'est toujours montré supérieur à 40 $\mu\text{g} \%$, la limite inférieure pour une exposition profes-



Tableau XXXXX
Composition du régime

Régime normal	Régime pauvre en calcium
1 fruit (pomme, orange ou banane) 2 biscuits secs nourriture pour singes eau du robinet	1 fruit (banane) riz 2 ml Hydrosol Roche (vitamines) eau pauvre en calcium (Volvic)

Tableau XXXXI

Groupes expérimentaux

Groupe	Animaux	Acétate de plomb (mg/jour)	Acide acétique 0,005 M (ml/jour)	Syrop d'orange (ml/jour)	Diète
I	1,2	0	20	2	normale
II	3,4	1,5	-	2	normale
III	5,6	6	-	2	normale
IV	7,8	15	-	2	normale
V	9,10	6	-	2	pauvre en calcium

sionnelle pour l'homme [DAVIES, 1972]. Chez ces animaux (tableau XXXXXII) nous avons observé aussi bien des aberrations chromatidiques (lacunes, cassures et échanges) que des anomalies chromosomiques (lacunes, fragments, translocations, anneaux centriques et chromosomes dicentriques). Pour l'analyse statistique nous avons regroupé sous le vocable "anomalies graves", les échanges, les translocations, les anneaux et les chromosomes dicentriques. Les lacunes et les fragments (aberrations légères) ont été traités séparément. Pour des raisons techniques il a été impossible d'inclure un groupe de témoins recevant une diète pauvre en calcium ni de procéder à une analyse chromosomique avant la mise en route de l'expérience. Il convient cependant de remarquer que nous n'avons détecté aucune anomalie grave chez les animaux exposés au plomb durant trois mois seulement alors que la fréquence des lacunes et des fragments était légèrement augmentée. Après 10 mois de traitement par contre, les aberrations graves sont apparues chez les animaux traités, particulièrement chez ceux ayant reçu un régime pauvre en calcium tandis que la fréquence d'aberrations légères augmentait dans tous les groupes. Nous avons trouvé un taux d'aneuploidie très variable et ne semblant pas lié à la teneur en plomb. On peut résumer comme suit les résultats de l'analyse statistique (Chi-carré) à laquelle nous avons procédé :

- a. La fréquence des aberrations graves augmente significativement uniquement dans le groupe traité au plomb sous un régime pauvre en calcium comparé au groupe recevant la même quantité de plomb avec une nourriture normale ($\chi^2 = 4,68$; $P = 0,03$). La durée du traitement n'a cependant pas d'influence significative.
- b. Pour tous les groupes, à l'exception de celui ayant reçu une ration journalière de 6 mg, le traitement au plomb augmente significativement l'in-

Tableau XXXXXII
Analyse chromosomique des singes soumis à un régime normal ou pauvre en calcium additionné d'acétate de plomb

Durée du traitement (mois)	Groupe	Nombre	Quantité d'acétate de plomb administrée par jour (mg)	Plomb sanguin µg/l	Cellules analysées	Cellules aneuploïdes	Cellules avec aberrations de structure	Type et nombre d'anomalies de structure observées					Anneau	Dicentrique		
								Lacune	Cassure	Echange	Lacune	Fragment			Aberration chromosomique	Translocation
3	I	1	0	160	200	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	II	2	1,5	250	200	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		3		470	200	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		4		460	200	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	III	5	6	570	200	11	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		6	480	200	8	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	IV	7	15	780	200	7	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		8	480	200	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	V*	9	6	1090	200	15	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		10	860	200	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	I	1	0	140	200	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		2	210	200	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	II	3	1,5	470	200	6	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		4	560	200	13	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	III	5	6	490	200	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		6	860	200	11	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	IV	7	15	770	200	6	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0
		8	860	200	8	2	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	V*	9	6	720	200	5	9	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		10	820	200	7	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
16	I	1	0	120	200	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		2	100	200	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	II	3	1,5	660	200	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		4	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	III	5	6	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		6	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	IV	7	15	890	200	3	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		8	1130	200	10	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	V*	9	1340	200	6	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		10	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

* Régime pauvre en calcium
+ animal mort.



cidence des lacunes : 1,5 mg, $X^2 = 4,36$, $P = 0,037$; 15 mg, $X^2 = 7,10$, $P = 0,0077$. Une carence en calcium ne semble pas accroître cet effet. Il existe une hétérogénéité significative entre les différents groupes, due au groupe déficient en calcium ($X^2 = 15,77$, $P = 0,0033$).

- c. Le traitement au plomb accroît également la fréquence des fragments pour l'ensemble des groupes ($X^2 = 23,06$, $P = 0,0012$), pour celui ayant reçu 1,5 mg par jour ($X^2 = 6,01$, $P = 0,014$) ou 15 mg ($X^2 = 6,01$, $P = 0,014$). Le nombre de fragments augmente avec le temps ($X^2 = 10,18$, $P = 0,006$), mais un régime pauvre en calcium n'a pas d'influence sur leur incidence.

Les singes semblent, en général, bien supporter le traitement au plomb jusqu'à 10 mois. Dans la période qui suit, 1 singe des groupes de 1,5 et de 15 mg et les 2 singes du groupe de 6 mg sont morts tandis que les autres, y compris les 2 animaux recevant un régime pauvre en calcium, étaient encore en vie après 16 mois. Le total du plomb ingéré au moment de chaque analyse est donné dans le tableau ci-dessous.

Tableau XXXXXIII

Plomb ingéré lors des analyses périodiques

Durée du traitement (mois)	Groupe	Acétate de plomb administrée (mg/jour)	Acétate de plomb absorbée (mg)	Plomb absorbé (mg)
3	I	0	0	0
	II	1,5	120	65
	III	6	470	260
	IV	15	1170	645
	V*	6	470	260
10	I	0	0	0
	II	1,5	390	215
	III	6	1550	855
	IV	15	3870	2130
	V*	6	1550	855
16	I	0	0	0
	II	1,5	620	340
	III	-	-	-
	IV	15	6180	3400
	V*	6	2475	1360

*Diète pauvre en calcium.



3.3. Discussion et conclusions

L'ensemble de nos observations sur le singe confirme donc les conclusions que nous avons dégagées de nos expériences sur la souris, à savoir qu'une carence en calcium semble indispensable pour permettre la production d'anomalies chromosomiques par le plomb. Il faut noter que les cellules somatiques étudiées chez la souris et chez le singe ne sont pas identiques. Dans le premier cas nous avons analysé les chromosomes des cellules de la moelle qui, mitotiquement parlant, sont extrêmement actives. Dans le second cas, par contre, nous nous sommes adressés à des cellules en G0 qui, ne se divisant pas, sont susceptibles de permettre la visualisation de l'accumulation des effets.

Résumé et conclusions du Chapitre V

Les études réalisées sur les travailleurs de l'industrie du zinc avaient révélé la présence d'anomalies chromosomiques dans les lymphocytes du sang circulant. Pour identifier les agents responsables nous avons réalisé une série d'expériences *in vivo* et *in vitro* avec les métaux les plus abondants dans ce type d'industrie, le zinc, le plomb et le cadmium.

1. ETUDES *IN VITRO* SUR DES LYMPHOCYTES HUMAINS

Dans une étude préliminaire la concentration toxique inhibant l'activité mitotique des lymphocytes en culture a été déterminée pour le chlorure de zinc, l'acétate de plomb et le chlorure de cadmium, les valeurs trouvées étant respectivement 3×10^{-3} M, 1×10^{-2} M et 5×10^{-4} M. Sur la base de ces résultats, 3 doses subtoxiques de chaque sel (2, 10 et 100 fois plus basse que la dose toxique) ont été ajoutées à des cultures de lymphocytes de 48 et de 72 heures au moment de l'initiation et 24 heures plus tard. Ce n'est que dans les cultures de 48 et 72 heures additionnées d'une quantité de 3×10^{-5} M de chlorure de zinc que nous avons trouvé des anomalies chromosomiques graves.

2. ETUDES *IN VIVO* SUR LA SOURIS

Du zinc (0,5 g %), du plomb (0,5 g %) et du cadmium (0,06 g %) ont été administrés sous forme de sel séparément à la nourriture normale ou carencée en calcium donnée à des souris mâles. Ces quantités de sels métalliques ont entraîné la mort en moins de 30 jours de 50 % des individus re-

cevant une nourriture carencée en calcium. Ces quantités ont été réduites de moitié pour les groupes de souris recevant les 3 métaux simultanément. Des 10 groupes expérimentaux, 10 survivants ont été sacrifiés après un traitement d'un mois. L'analyse chromosomique a montré qu'une nourriture pauvre en calcium ne provoque pas d'anomalies chromosomiques graves tandis que combinée au zinc, au plomb ou à un mélange des trois métaux elle entraîne des anomalies de ce genre. Il est à noter qu'une telle nourriture additionnée de cadmium ne semble pas produire ces anomalies.

3. ETUDES *IN VIVO* SUR LE SINGE

Afin d'être certain que nos études sur la souris peuvent être extrapolées à l'homme nous avons fait appel au singe, un animal plus proche de l'homme, pour tester la mutagénicité du plomb. Dix singes cynomolgus ont été répartis en 5 groupes recevant journallement différentes concentrations d'acétate de plomb (1,5, 6 et 15 mg). Un groupe recevant 6 mg d'acétate de plomb était en même temps carencé en calcium. Des cultures de lymphocytes ont été établies après 3, 10 et 16 mois de traitement. Nous avons trouvé des anomalies graves après 10 et 16 mois de traitement surtout chez les singes carencés en calcium recevant 6 mg d'acétate de plomb.

De l'ensemble de nos études expérimentales on peut donc conclure qu'un manque de calcium est un important cofacteur dans la mutagénicité des métaux lourds. Sous de telles conditions seuls le zinc et le plomb, à l'exclusion du cadmium, semblent mutagéniques.

DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSIONS

Nos observations sur l'homme ont démontré qu'une exposition chronique à un mélange de métaux tels que le zinc, le plomb ou le cadmium peut entraîner l'apparition d'un taux assez faible mais cependant significatif d'anomalies chromosomiques graves dans les lymphocytes. Nos expériences *in vitro* nous ont permis de conclure que potentiellement seul le zinc est susceptible de produire des anomalies de ce type tandis que nos recherches *in vivo* mettaient en évidence le rôle important que pouvait jouer une carence en calcium. En effet, alors que chez les animaux recevant une nourriture normale additionnée de sels de zinc, de plomb, de cadmium ou d'un mélange de ces trois sels métalliques nous n'avons noté qu'un taux non significatif d'anomalies chromosomiques graves, nous avons par contre remarqué que si la nourriture était carencée en calcium, le zinc et le plomb, contrairement au cadmium pouvaient produire des anomalies de ce genre.

Ces résultats doivent évidemment s'apprécier d'une part en fonction de ce que l'on connaît sur la mutagénicité de ces trois métaux grâce aux tests réalisés dans d'autres systèmes, d'autre part en tenant compte des différences fondamentales qui existent entre une exposition *in vitro* et *in vivo* et enfin en considérant les similitudes et les interférences existant entre le métabolisme de ces divers métaux et celui du calcium.

1. MUTAGENICITE DES METAUX PRIS INDIVIDUELLEMENT

1.1. Mutagénicité du zinc

Les recherches sur la mutagénicité du zinc ont été réalisées sur

les microorganismes, les plantes, la *Drosophila* et, comme nous l'avons déjà vu, *in vivo* et *in vitro* sur les mammifères.

a. Bactéries

Les essais d'induction de recombinaison sur les souches H17 Rec⁺ et M45 Rec⁻ de *Bacillus subtilis* ont donné des résultats négatifs avec le chlorure de zinc [NISHIOKA, 1975] et les fongicides à base de zinc que sont le "Metiram", "[ethylenebis (thiocarbamoyl) disulfide] [zinc ethylenebis (dithiocarbamate)] copolymer", et le "ZM", "zinc methyldithiocarbamate", et des résultats positifs avec le "Bis-Dithane", "dizinc bis (dimethyldithiocarbamate) ethylenebis (dithiocarbamate)", et le "Ziram", "zinc dimethyldithiocarbamate" [SHIRASU et al., 1976]. L'activité mutagénique des particules présentes dans la fumée produite par la soudure à l'arc, et parmi lesquelles on trouve du zinc, a été démontrée en utilisant le test d'AMES* sur *Salmonella typhimurium* avec les souches TA100 et TA98 [MAXILD et al., 1978]. Dans des études sur la réversion chez *Escherichia coli*, VENITT et LEVY [1974] ont obtenu des résultats négatifs avec le zinc. La nature du composé utilisé n'est pas spécifiée dans leur publication. Utilisant le même test, NAGY et al. [1975] n'ont pas trouvé un effet mutagénique avec le fongicide à base de zinc qu'est le "Zineb", "zinc ethylene bisdithiocarbamate".

* Ce test est réalisé au moyen de souches *S. typhimurium* déficientes pour la synthèse de l'histidine. Au milieu de culture sont ajoutés des microsomes de foie de rat ou de souris qui "activent" la substance à étudier comme si elle était passée par l'animal [AMES et al., 1973].

b. Plantes

GLÄSS [1956, b] signale une augmentation significative des anomalies chromosomiques dans les pointes de racines de *Vicia faba* traitées durant 2 heures avec des solutions de 10^{-2} à 10^{-5} M de nitrate de zinc. Des résultats similaires sont rapportés avec des graines de la même espèce immergées durant 3 heures dans une solution de sulfate de zinc à 10^{-3} M [MOUTSCHEN - DAHMEN, 1963] ou cultivées dans une solution à 0,1 % de ce même sel [HERICH, 1969 a; b]. De leur côté SATHAIAH et REDDY [1973] ont observé des anomalies dans la distribution des chromosomes (Mitoses-C), dans des racines d'*Allium cepa* traitées durant 6 ou 8 heures par des solutions contenant 0,25 à 0,50 % d'un fongicide à base de zinc le "Zineb", "zinc ethylene bithiocarbamate".

c. *Drosophile*

Chez *Drosophila melanogaster*, recevant une nourriture contenant du chlorure de zinc⁶⁵ à des concentrations de 98,88 μ Ci et de 312,40 μ Ci par millilitre, CARPENTER et RAY [1969] ont pu démontrer qu'à la concentration la plus élevée les tests de la létalité dominante et de la létalité récessive liée au sexe étaient hautement significatifs. Il est probable sinon certain, cependant que ce soit la radioactivité qui soit responsable des mutations observées.

d. Cellules de mammifères traitées *in vitro*

Comme nous l'avons démontré (Chapitre V) le chlorure de zinc, à une concentration finale de 3×10^{-5} M peut produire des aberrations chromosomiques graves dans les lymphocytes humains. Des anomalies chromosomi-

ques ont été signalées par PILINSKAYA [1971] dans des lymphocytes humains traités au fongicide "Ziram", "zinc dimethyldithiocarbamate".

e. Mammifères traités in vivo

Outre nos résultats positifs sur les souris C57B1 (Chapitre V), quelques anomalies chromosomiques ont été signalées par YODER et al. [1973] dans les lymphocytes de 42 travailleurs chargés de pulvériser des herbicides, dont "Zineb", "zinc ethylene bisdithiocarbamate", un fongicide à base de zinc, et par PILINSKAYA [1974] dans les cellules de 15 personnes exposées au même fongicide. Le taux moyen de chromosomes dicentriques et en anneau était de 0,7 %. Ces mêmes auteurs [PILINSKAYA, 1970 ; MARTSON et PILINSKAYA, 1971] ont aussi mentionné des résultats positifs chez des personnes professionnellement exposées à un autre fongicide à base de zinc le "Ziram", "zinc dimethyldithiocarbamate".

Conclusions

Un certain nombre de tests réalisés sur des procaryotes et tous les test effectués *in vivo* et *in vitro* sur les eucaryotes s'accordent à reconnaître un pouvoir mutagénique au zinc. On doit donc en conclure qu'il est probable, sinon certain, que ce métal est partiellement responsable des anomalies chromosomiques que nous et BAUCHINGER et al. [1976] avons rencontrées chez les travailleurs de l'industrie du zinc. On doit sans doute également lui attribuer un certain rôle dans la production des anomalies observées chez les personnes atteintes par la maladie dite "Itai-Itai" [SHIRAISHI et YOSIDA, 1972 ; BUI et al., 1975 ; SHIRAISHI, 1975].

1.2. Mutagénicité du plomb

Outre les études *in vitro* et *in vivo* sur mammifères que nous avons discutées longuement dans les chapitres IV et V des recherches ont été effectuées avec des microorganismes, des plantes et la *Drosophile*.

a. Bactéries

Le chlorure de plomb, aussi bien que l'acétate de plomb, à des concentrations de 0,05 M, ne produisent pas de recombinaisons dans les souches H17 Rec⁺ et M45 Rec⁻ de *Bacillus subtilis* [NISHIOKA, 1975]. Dans l'étude de MAXILD [1978] sur la mutagénicité des fumées de soudure de l'arc, dont nous avons déjà parlé précédemment et dans lesquelles on trouve des particules de plomb, des résultats positifs ont été obtenus dans le test d'AMES sur *Salmonella typhimurium*.

b. Plantes

Le chlorure de plomb ne provoque pas une augmentation appréciable du taux de mutations (affectant la vitesse de croissance et la forme de colonies) chez *Platymonas subcordiformis* [HESSLER, 1975]. Par contre, le nitrate de plomb augmente la fréquence des mitoses anormales (Mitoses-C) dans les racines d'*Allium cepa* [LEVAN, 1945]. Utilisant le même système que LEVAN, AHLBERG et al. [1972] ainsi que RAMEL [1973] ont observé des anomalies chromosomiques (ponts, fragments et/ou mitoses-C) avec des concentrations de plomb triéthyl à 10⁻⁵ M et de chlorure de plomb di- et tri-alkylé de 10⁻⁶ à 10⁻⁷ M.

c. Drosophile

Selon RAMEL [1973] le plomb triéthyl accroît les erreurs de disjonction sur la *Drosophile*. Un accroissement des mutations géniques en fonction de la distance par rapport à une fonderie de plomb et de la concentration du plomb dans l'air durant les années 1971, 1972 et 1974 a été observé dans cet organisme par LOWER [1975] dans la ville de Bixby, Missouri.

d. Cellules de mammifères traitées in vitro

Ainsi que nous l'avons discuté en détail dans le chapitre V la plupart des résultats des expériences réalisées dans des conditions strictes [BAUCHINGER et SCHMID, 1972 ; SCHMID et al., 1972] ont, comme les nôtres, donné des résultats négatifs.

e. Mammifères traités in vivo

Si des résultats légèrement positifs et d'ailleurs discutables ont été rapportés par MURO et GOYER [1969] sur les cellules de la moelle de souris et par VARMA et al. [1974] sur les cellules reproductrices mâles de la même espèce on peut dire que selon la plupart des auteurs le plomb s'est avéré incapable de produire des anomalies chromosomiques dans les cellules somatiques [LEONARD et al., 1972 ; JACQUET et al., 1977] ou dans les cellules reproductrices [KENNEDY et ARNOLD, 1971 ; LEONARD et al., 1972] de la souris. Ceci confirme donc nos résultats obtenus sur les souris C57B1 et les singes cynomolgus recevant une nourriture normale additionnée de plomb (Chapitre V).

Conclusions

Contrairement aux résultats positifs obtenus dans les tests de mutagenicité utilisant les plantes ou la *Drosophile* toutes les études effectuées dans des conditions expérimentales strictes *in vivo* et *in vitro* sur mammifères ont donné des résultats négatifs. A la lumière de ces résultats on doit donc conclure que le plomb n'est apparemment pas responsable des anomalies chromosomiques que nous avons rencontrées chez les travailleurs de l'industrie du zinc ou qui ont été signalées dans diverses industries impliquant une exposition au plomb par BAUCHINGER et al. [1972], FORNI et SECCHI [1972] et DEKNUDT et al. [1978]. Cette absence d'effet du plomb *in vivo* sur les chromosomes est d'ailleurs confirmée, si besoin en était, par nos résultats négatifs sur des travailleurs de l'industrie de l'étain [DEKNUDT et al., 1978] ainsi que par ceux de SPERLING et al. [1970] sur des travailleurs de manufactures de batteries, de SCHWANITZ et al. [1970] sur des travailleurs d'une usine d'oxide de plomb, de SCHMID et al. [1972] sur des travailleurs d'une usine de stéarate de plomb, de batteries et des soudeurs, de O'RIORDAN et EVANS [1974] sur des travailleurs occupés au décapage des coques de navires, de BUI et al. [1975] sur des travailleurs de manufacture de batteries, de FORNI et al. [1976] sur des travailleurs du même genre et de BAUCHINGER et al. [1977] sur des enfants vivant au voisinage d'une fonderie de plomb.

Les résultats positifs que nous avons enregistrés sur les animaux recevant une nourriture pauvre en calcium et additionnée de plomb démontrent cependant que la combinaison de ces deux facteurs est capable d'entraîner *in vivo* l'apparition d'anomalies chromosomiques dans les cellules somatiques des mammifères. On ne peut donc exclure *a priori* la possibilité qu'un cer-

tain nombre d'anomalies chromosomiques observées sur les travailleurs des usines de métaux lourds soit due à une synergie (intoxication par le plomb-carence en calcium). Les mécanismes possibles de cette interaction seront discutés ultérieurement.

1.3. Mutagénicité du cadmium

De nombreux systèmes ont été utilisés pour tester la mutagénicité du cadmium tant chez les microorganismes, que chez la *Drosophile*, les plantes ou les mammifères.

a. Bactéries

Le test de recombinaison sur les souches H17 Rec⁺ et M45 Rec⁻ de *Bacillus subtilis* a donné des résultats positifs avec une concentration de 0,05 M de chlorure de cadmium mais négatifs avec le nitrate de cadmium [NISHIOKA, 1974, 1975]. MAXILD et al. [1978] ont pu démontrer au moyen du test d'AMES avec *Salmonella typhimurium* une activité mutagénique des particules produites dans la fumée de la soudure à l'arc et contenant du cadmium. Selon VENITT et LEVY [1974] les sels de cadmium (nature non donnée) ne produisent pas de réversion chez *Escherichia coli*.

b. Plantes

Ce matériel semble particulièrement sensible à l'induction de dommages génétiques par le cadmium. Dans les graines d'orge, un léger accroissement de la fréquence des cassures de chromosome (entre 0,3 et 0,5 % d'aberrations à l'anaphase) a été observé après traitement durant 2 heures avec

divers sels de cadmium (chlorure, bromure, iodure, nitrate, sulfate et acétate) à une concentration de 10^{-5} M [DEGRAEVE, 1971]. Des cassures de chromosome ont également été signalées dans les pois en germination [VAN ROSEN, 1954 ; 1957]. Chez *Crepis capillaris*, le nitrate de cadmium (0,1 à 0,01 M durant 1 heure) augmente de 2 à 3 fois le nombre d'aberrations [RUPOSHEV, 1976]. Il a tendance de produire plutôt des aberrations chromosomiques que chromatidiques et son effet ne semble pas dépendre du stade du cycle cellulaire atteint par la cellule au moment du traitement. Il est intéressant de noter que le nitrate de cadmium réduit le taux d'aberrations chromosomiques induites par l'éthylèneimine chez *Crepis capillaris* [RUPOSHEV, 1976]. Chez *Vicia faba*, des concentrations de nitrate de cadmium variant entre 10^{-2} M et 10^{-3} M provoquent la destruction totale du système mitotique. A des concentrations plus basses se produisent des changements dans la structure des chromosomes, des translocations chromatidiques, des fragmentations, des lacunes et des ponts. La concentration effective la plus basse est de 10^{-5} M durant 24 heures avec une période de restauration de 2 heures [GLÄSS, 1955 ; 1956 a, b].

c. *Drosophile*

Le chlorure de cadmium (50 mg/l ou 62 mg/l) n'augmente pas le taux de létalité récessive liée au sexe chez la *Drosophile* mâle [VON ROSEN, 1954 ; SORSA et PFEIFER, 1973 ; FRIBERG et al., 1974].

d. Cellules de mammifères traitées *in vitro*

Alors que nous n'avons observé aucun accroissement de l'incidence

des anomalies chromosomiques dans les lymphocytes humains traités *in vitro* avec des sels de cadmium, des résultats légèrement positifs ont été observés, comme nous l'avons dit, par RÖHR et BAUCHINGER [1976] sur des cellules de hamster de Chine et des résultats positifs très discutables par SHIRAIISHI et al. [1972] avec lymphocytes humains et par ZASUKHINA et al. [1977] sur des cellules embryonnaires de rat infectées par le virus de KILHAM.

e. Mammifères traités in vivo

Les observations effectuées sur les cellules reproductrices mâles de la souris [EPSTEIN et al., 1972 ; GILLIAVOD et LEONARD, 1975 ; SUTER, 1975] n'ont pas permis de déceler la production d'anomalies chromosomiques dans ce type de cellules après traitement au cadmium. Dans les cellules reproductrices femelles de la même espèce, SHIMADA et al. [1976] ont signalé simplement un accroissement du taux d'anomalies numériques après traitement par le chlorure de cadmium. DIXON et al. [1976], après traitement du rat mâle, n'ont pas pu déceler des anomalies chromosomiques dans les cellules reproductrices.

L'accroissement de la fréquence des cellules hypodiploïdes signalé chez le mouton par DOYLE et al. [1974] paraît plus que discutable.

Conclusions

L'ensemble des résultats rapportés sur le cadmium suggère que ce métal n'est potentiellement pas mutagénique puisque il semble seulement produire des anomalies chromosomiques chez les plantes tandis que des résultats contradictoires ont été signalés chez les microorganismes et que d'autres

sont complètement négatifs chez la Drosophile.

Chez les mammifères nous n'avons observé aucun effet tant dans nos expériences *in vitro* que dans celles *in vivo* alors que certains résultats suggèrent que ce métal pourrait éventuellement produire des anomalies *in vitro*. *In vivo* les anomalies de structures sont complètement absentes tant dans des cellules reproductrices mâles ou femelles que dans les cellules mitotiques de plusieurs espèces.

Nous pensons en conclusion que le cadmium ne semble pas susceptible de produire une augmentation significative du taux d'anomalies chromosomiques chez l'homme et qu'aucune anomalie grave telle que celles qui ont été observées chez les travailleurs des usines de métaux lourds ne peut lui être imputée.

2. INTERACTIONS ENTRE LES DIVERS METAUX

Jusqu'à présent nous n'avons envisagé que l'action des différents métaux lourds pris individuellement. Quoique encore très fragmentaires divers résultats expérimentaux suggèrent que ces métaux peuvent avoir des actions interdépendantes et que leurs effets peuvent être liés au métabolisme du calcium.

2.1. Interaction zinc-cadmium

Dans l'écorce terrestre, le rapport entre le cadmium et le zinc est de 1 pour 445, tandis que chez l'homme adulte il est de 1 pour 73 et

dans le rein de 2 pour 3 [NILSSON, 1970]. Dans certaines diètes européennes ce rapport peut être de 1 à 100 [National Academy of Sciences, 1974].

PARIZEK [1957] et plus tard MASON et YOUNG [1967] ont démontré que le zinc peut avoir une action protectrice contre l'effet toxique du cadmium : en injectant simultanément aux petits mammifères du zinc (3 mol par kg) et du cadmium (0,03 mol par kg) ils ont en effet pu prévenir la nécrose testiculaire. Il semblerait que l'action protectrice résultant d'un prétraitement par le zinc soit due partiellement à l'induction par ce métal de la synthèse d'une protéine spécifique, la métallothionéine, [NORDBERG et al., 1972 ; WEBB, 1972a ; BREMNER et DAVIES, 1975 ; BREMNER, 1976], qui capte le cadmium et a donc ainsi une action détoxifiante [KAGI et VALLEE, 1961 ; WEBB, 1972a]. Ceci expliquerait pourquoi l'administration de zinc augmente la rétention du cadmium dans le corps [COTZIAS et al., 1961 ; 1962] principalement dans le foie comme l'ont montré les études faites sur les animaux intoxiqués [FRIBERG et al., 1971 ; WEBB, 1972b]. Ce mécanisme ne permet cependant pas d'élucider toutes les interactions entre le zinc et le cadmium. Il est en effet possible qu'il existe en outre une certaine compétition au niveau du transport du cadmium jusqu'à l'endroit de son action ou au niveau des molécules connexes dans le tissu cible. La diminution de l'activité de l'isoenzyme testiculaire de l'anhydrase carbonique rapportée après administration de cadmium semble intéressante à cet égard [HODGEN et al., 1969a ; b].

Quelque soit le mécanisme en cause on peut cependant considérer comme acquis que le zinc protège contre une intoxication par le cadmium, le rapport cadmium/zinc dans le cortex rénal semblant notamment conditionner certains cas d'hypertension chez l'animal [SCHROEDER et al., 1966] et chez

l'homme [SCHROEDER, 1967 ; LENER et BIBR, 1971]. Une modification de ce rapport pourrait peut être également être liée à la gravité de certains cas d'artériosclérose [VOORS et al., 1973]. L'interaction du cadmium avec le zinc semble être compétitive. Quand le taux de zinc est marginal, les effets toxiques de cadmium augmentent et des signes de déficience en zinc apparaissent [PETERING et al., 1971].

Ajoutons encore qu'*in vitro* [VALLEE et ULMER, 1972] comme *in vivo* [WEBB, 1972c] le cadmium inhibe l'action de certains enzymes dépendant du zinc.

2.2. Interaction zinc-plomb

Un traitement par le zinc peut diminuer [FINELLI et al., 1975] l'action inhibitrice du plomb sur la déshydrogénase de l'acide aminolévulinique. Cette enzyme contient d'ailleurs du zinc [GURBA et al., 1972 ; FINELLI et al., 1974]. L'administration simultanée de zinc et de plomb à des chevaux augmente la quantité de plomb présente dans le foie et les reins mais diminue le dépôt du plomb dans les os [WILLOUGHBY et al., 1972] et les animaux semblent moins intoxiqués que s'ils reçoivent du plomb seulement. Une augmentation du zinc alimentaire perturbe aussi l'absorption du plomb chez le rat et a donc un effet protecteur. Le zinc administré par injection est cependant inefficace [CERKLEWSKI et FORBES, 1976]. Par contre chez le porc, recevant une nourriture normale ou pauvre en calcium additionnée de zinc et de plomb, le zinc augmente l'effet toxique et la rétention du plomb [HSU et al., 1975].

Le plomb remplace le zinc ou empêche l'absorption de ce dernier par le cerveau. Chez le lapin exposé à des doses toxiques du plomb tétra-éthyl, le cerveau perd 0,5 mole de zinc pour chaque mole de plomb qui y est retenue [NIKLOWITZ et YEAGER, 1973].

2.3. Interaction calcium-cadmium

L'absorption intestinale du cadmium ainsi que son dépôt dans les tissus osseux et les tissus mous [LARSSON et PISCATOR, 1971 ; POND et WALKER, 1973 ; ITOKAWA et al., 1974] sont augmentés chez le rat recevant une diète pauvre en calcium. Si cette carence en calcium va de paire avec une déficience en protéines, le cadmium provoque une diminution de la minéralisation osseuse. On pense d'ailleurs que le symptôme principal de la maladie "Itai-Itai", la douleur osseuse, serait du à une déficience en calcium et en protéines combinée à un empoisonnement par le cadmium [ITOKAWA et al., 1974].

Chez le porc [HENNIG et ANKE, 1964] le cadmium a un effet inhibiteur sur l'incorporation du calcium dans les os même si l'apport journalier de ce dernier est normal. Ceci pourrait être du à l'inhibition par le cadmium de la synthèse du 1,25-dihydroxycholecalciferol dans les tubules rénales [FELDMAN et COUSINS, 1973 ; KIMURA et al., 1974 ; SUDA et al., 1974]. Cette hormone facilite l'absorption intestinale du calcium.

2.4. Interaction calcium-plomb

L'effet de la composition de la diète sur l'absorption gastrointestinale du plomb a été étudié par WETHERILL et al. [1974] qui ont démontré que l'homme à jeun absorbe jusqu'à 50 % du plomb ingéré tandis que normale-

ment nourri il absorbe de 6 à 14 % seulement.

L'absorption intestinale du plomb semble sous la dépendance du calcium. MAHAFFEY et al. [1973] ont montré que l'ingestion d'une eau de boisson contenant 12 ppm de plomb par des rats recevant un régime pauvre en calcium (0,1 %) produisait le même effet qu'une ingestion d'eau de boisson contenant 200 ppm par des animaux nourris avec un régime normal. La teneur des reins en plomb était 10 fois plus élevée dans le premier groupe que dans le deuxième. Les animaux recevant de l'eau de boisson ordinaire et une diète pauvre en calcium avaient quatre fois plus de plomb dans leurs reins que les témoins. On doit en conclure qu'une déficience en calcium favorise l'absorption du plomb tout comme elle incite d'ailleurs les rats sevrés à une plus grande ingestion des solutions d'acétate de plomb [SNOWDON et SANDERSON, 1974].

Un régime riche en calcium et comprenant en plus du lait entraîne, par contre, une diminution de l'absorption intestinale de plomb radioactif chez le rat [KOSTIAL et al., 1971]. Au niveau cellulaire le calcium semble aussi jouer un rôle protecteur. C'est ainsi qu'une millimole de calcium inhibe l'effet de 8×10^{-5} M de plomb sur la fonction myoneurale de l'hémi-diaphragme de rat stimulé par le nerf phrénique [SILBERGELD et al., 1974].

2.5. Interaction plomb-cadmium

Certains auteurs et notamment, CHALLOP [1971] ont suggéré l'existence d'une synergie entre le cadmium et le plomb, sans cependant qu'une explication soit proposée. On a en effet montré, tout comme cela a été fait pour le zinc qu'un prétraitement au plomb diminuait les effets d'une intoxi-

cation par le cadmium [YOSHIKAWA, 1970 ; 1973].

*
* *
*

En résumé on peut donc dire que le zinc exerce une action protectrice de l'organisme vis à vis du cadmium et vis à vis du plomb. Dans le premier cas ce serait notamment en favorisant la synthèse d'une protéine la métallothionéine qui capterait le cadmium. Dans le second le zinc diminuerait l'action inhibitrice du plomb sur la déhydratase de l'acide aminolévulinique. Son rôle dans l'absorption du plomb n'est cependant pas encore complètement éclairci ainsi que le montrent les résultats apparemment contradictoires obtenus jusqu'à présent.

Il est certain d'autre part qu'une carence en calcium augmente l'absorption du cadmium et celle du plomb par l'organisme.

Nos travaux *in vitro* sur les lymphocytes humains nous ont donc permis d'étudier le pouvoir théorique qu'avait chaque métal de produire des anomalies chromosomiques dans les cellules de mammifères tandis que nos recherches *in vivo* sur la souris et sur le singe nous permettaient de mettre en évidence le rôle du calcium. Sur ce point nos résultats cadrent donc parfaitement avec ce que nous venons de voir sur les interactions possibles entre le calcium et le plomb.

Nos observations positives sur les travailleurs de l'industrie du zinc doivent donc être considérées en tenant compte de ce que

1. *in vitro* le zinc peut produire des cassures chromosomiques.
2. *in vivo* l'action du zinc est augmentée par une carence en calcium. Il convient cependant de remarquer ici que la carence en calcium, qui augmente l'incorporation du plomb, entraîne l'apparition d'anomalies chromosomiques graves chez les animaux intoxiqués par ce métal tandis que la carence en calcium chez les animaux intoxiqués par le cadmium ne semble pas avoir un tel effet.
3. L'exposition au zinc a peut-être eu un effet protecteur sur les travailleurs exposés au plomb et au cadmium encore que jusqu'à présent nous ne sachions pas avec certitude si cet effet se manifeste également vis à vis de l'induction d'anomalies chromosomiques. Nos propres résultats suggèrent d'ailleurs, comme nous venons de le voir, que le zinc est également clastogène.

BIBLIOGRAPHIE

- A.C.G.I.H., (1973), For chemical substances and physical agents in the workroom environment with intended changes for 1973. American Conference of Governmental and Industrial Hygienists, Cincinnati, Ohio, 12, 36.
- ADAMS, M.H., (1949), The calcium requirement of coliphage T5. J. Bacteriol. 62, 505-516.
- AHLBERG, J., RAMEL, C. et WACHTMEISTER, C.A., (1972), Organolead compounds shown to be genetically active. *Ambio* 1, 29-31.
- Airborne lead in perspective, (1972), National research council, National academy of sciences, Washington, D.C.
- ALLOWAY, B.J. et DAVIES, B.E., (1971), Heavy metal content of plants growing on soils contaminated by lead mining. J. agr. Sci., Camb., 76, 321-323.
- AMES, B.N., LEE, F.D. et DURSTON, W.E., (1973), An improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 70, 782-786.
- ANKE, M., HENNIG, A., SCHNEIDER, H.J., LUDKE, H., VON CAGERN, W. et SCHLEGAL, H., (1970), The interrelationships between cadmium, zinc, copper, iron in metabolisms of hens, ruminants and man, in : Trace Elements Metabolism in Animals. Mills, C.F. (ed.), Livingstone, London.
- Annual Report on Alkali (99 to 108th), (1971), Works, presented by the Chief Inspectors. London, Her Majesty's Stationery Office.
- ATHANASSIADIS, Y.C., (1969), Air pollution aspects of cadmium and its compounds. Litton Systems, Incorporated Bethesda, Maryland, 1-82.

- AUERBACH, C. et ROBSON, J.M., (1944), Production of mutations by allyl isothiocyanate. *Nature*, 154, 81.
- AUERBACH, C. et ROBSON, J.M., (1946), Chemical production of mutations. *Nature*, 157, 302.
- AULA, P., (1963), Chromosome breaks in leukocytes of chickenpox patients. *Hereditas*, 49, 451-453.
- AXELSSON, B. et PISCATOR, M., (1966), Renal damage after prolonged exposure to cadmium. *Arch. Environ. Health*, 12, 360-373.
- BARROWS, H., (1967). The agricultural significance of inorganic pollutants, Paper prepared for presentation Aug. 21, at a symposium, Damage to plants from Soil and Water Pollution, sponsored by the American Phytopathological Society, Washington, D.C.
- BAUCHINGER, M., DRESP, J., SCHMID, E., ENGLERT, N. et KRAUSE, Chr., (1977), Chromosome analyses of children after ecological lead exposure. *Mut. Res.*, 56, 75-80.
- BAUCHINGER, M. et RÖHR, G., (1975), Chromosome analyses in cell cultures of chinese hamster after application of CdSO₄. Vth Annual Meeting of the European Environmental Mutagen Society Firenze, (Ba-2).
- BAUCHINGER, M. et SCHMID, E., (1972), Chromosomenanalysen in Zellkulturen des chinesischen Hamsters nach Applikation von Bleiacetat. *Mut. Res.*, 14, 95-100.
- BAUCHINGER, M., SCHMID, E., EINBRODT, H.J. et DRESP, J., (1976), Chromosome aberrations in lymphocytes after occupational exposure to lead and cadmium. *Mut. Res.*, 40, 57-62.
- BAUCHINGER, M., SCHMID, E. et SCHMIDT, D., (1972), Chromosomenanalyse bei Verkehrspolizisten mit erhöhter Bleilast. *Mut. Res.*, 16, 407-412.
- BEEK, B. et OBE, G., (1974), Effect of lead acetate on human leukocyte chromosomes *in vitro*. *Experientia*, 30, 1006-1007.

BELL, A.G., (1964), Diploid and endoreduplicated cells : measurements of DNA. *Science*, 143, 139-140.

BELL, A.G. et BAKER, D.G., (1962), Irradiation-induced chromosome aberrations in normal human leukocytes in culture. *Canadian J. Genetics and Cytol.*, 4, 340-351.

BENDER, M.A. et BREWEN, J.G., (1969), Factors influencing chromosome aberration yields in the human peripheral leukocyte system. *Mut. Res.*, 8, 383-399.

BESSIS, M.C. et JENSEN, W.N., (1965), Sideroblastic anaemia, mitochondria and erythroblastic iron. *Brit. J. Haematol.*, 11, 49-51.

BJORKSTEN, J., (1969), In *Aging Life Processes* (Edited by S. Bakerman), 174-179. Thomas, Springfield.

BLAMBERG, D.L., BLACKWOOD, U.B., SUPPLEE, W.C. et COMBS, C.F., (1960), Effect of zinc deficiency in hens on hatchability and embryonic development. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 104, 217-220.

BLANCHARD, R.L., (1966), Relationship between polonium-210 and lead-210 in man and his environment, 281-294. In B. Aberg and F.P. Hungate, Eds., *Proceedings of the International Symposium on Radioecological Concentration Process.*, New York : Pergamon Press.

BOCHKOV, N.P., (1972), Spontaneous chromosome aberrations in human somatic cells. *Humangenetik*, 16, 159-164.

BOCHKOV, N.P. et PILOSOV, R.A., (1968), The effect of gamma-rays on human chromosomes, II. The dependence of chromosome aberrations frequency upon sex and age. *Genetics (USSR)*, 4, 144.

BONNELL, J.A., (1955), Emphysema and proteinuria in men casting copper-cadmium alloys. *Brit. J. Ind. Med.*, 12, 181-195.

BONNELL, J.A., KAZANTZIS, G. et KING, E., (1959), A follow-up study of men exposed to cadmium oxide fume. Brit. J. Ind. Med., 16, 135-145.

BREMNER, I., (1976), J. Nutr., 35, 245-252.

BREMNER, I. et DAVIES, N.T., (1975), The induction of metallothionein in rat liver by zinc injection and restriction of food intake. Biochem. J., 149, 733-738.

BROOKES, P. et LAWLEY, P.D., (1964), Evidence for the binding of polynuclear aromatic hydrocarbons to the nucleic acids of mouse skin : Relation between carcinogenic power of hydrocarbons and their binding to deoxyribonucleic acid. Nature, 202, 781-784.

BRUAUX, P., (1972), Métabolisme du plomb chez les animaux - Possibilités d'utilisation des résultats pour l'homme. International Symposium Environmental Health Aspects of Lead, Amsterdam, 271-286.

BRUERE, A.N., (1967), Evidence of age aneuploidy in the chromosome of the sheep. Nature, 215, 658-659.

BUCHAUER, M.J., (1973), Contamination of soil and vegetation near a zinc smelter by zinc, cadmium, copper and lead. Environ. Sci. and Tech., 7, 131-135.

BUCKTON, K.E. et EVANS, H.J., (1973), Methods for the analysis of human chromosome aberrations. W.H.O., Geneva, 1-67.

BUCKTON, K.E., JACOBS, P.A. et COURT BROWN, W.M., (1962), A study of the chromosome damage persisting after X-ray therapy for ankylosing spondylitis. Lancet ii, 676-682.

BUCKTON, K.E. et PIKE, M.C., (1964), Time in culture. An important variable in studying *in vivo* radiation-induced chromosome damage in man. Int. J. Rad. Biol., 8, 439-452.

BUCKTON, K.E. et PIKE, M.C., (1964), Chromosome investigations on lymphocytes from irradiated patients : Effect of time in culture. *Nature*, 202, 714-715.

BUCKTON, K.E., SMITH, P.G. et COURT BROWN, W.M., (1967), The estimation of lymphocyte lifespan from studies on males treated with X-rays for ankylosing spondylitis, 106-114 in *Human Radiation Cytogenetics*. H.J. Evans, W.M. Court Brown, A.S. McLean, eds., North-Holland Publishing Co., Amsterdam.

BUI, T.H., LINDSTEN, J. et NORDBERG, G.F., (1975), Chromosome analysis of lymphocytes from cadmium workers and Itai-Itai patients. *Environ. Res.*, 9, 187-195.

BURTON, W.M. et STEWARD, N.G., (1960). Use of long-lived natural radioactivity as an atmospheric tracer. *Nature*, 186, 584-589.

BUTT, E.M., NUSBAUM, R.E., GILMOUR, T.C. et DIDIO, S.L., (1964), Trace metal levels in human serum and blood. *Arch. Environ. Health*, 8, 52-57.

BUTT, E.M., PEARSON, H.E. et SIMONSEN, D.G., (1952), Production of meningoceles and cranioschisis in chick embryos with lead nitrate. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 79, 247-249.

CALDWELL, D.F., OBERLEAS, D., CLANCY, J.J. et PRASAD, A.S., (1970), Behavioral impairment in adult rats following acute zinc deficiency. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 13, 1417-1421.

CANNON, H.L. et BOWLES, J.M., (1962), Contamination of vegetation by tetraethyl lead. *Science*, 137, 765-766.

CARPENTER, S.J. et FERM, H., (1977), Embryopathic effects of lead in the hamster. A morphologic analysis. *Laboratory Investigation*, 37, 369-385.

- CARPENTER, J.M. et RAY, J.H., (1969), The effect of ⁶⁵zinc chloride on the production of mutations in *Drosophila melanogaster*. Amer. Zool., 9, 1121.
- CERKLEWSKI, F.L. et FORBES, R.M., (1976), J. Nutr., 106, 689-696.
- CHALLOP, R.S., (1971), Role for cadmium in lead poisoning. New Eng. J. Med., 285, 970.
- CHISOLM, J.J., Jr., (1964), Disturbances in the biosynthesis of heme in lead intoxication. J. Pediat., 64, 174-187.
- CHISOLM, J.J., Jr., (1970), Treatment of acute lead intoxication - Choice of chelating agents and supportive therapeutic measures. Clin. Toxic., 3, 527-540.
- CHOLAK, J., SHAFER, L.J. et HOFFER, R.F., (1950), Collection and analysis of solids in urban atmospheres. A.M.A. Arch. ind. Hyg., 2, 443-453.
- CHOW, T.J., (1968), Isotopic analysis of seawater by mass spectrometry. J. Water Pollut. Control Fed., 40, 399-411.
- CHOW, T.J. et PATTERSON, C.C., (1962), The occurrence and significance of lead isotopes in pelagic sediments. Geochim. Cosmochim. Acta, 26, 263-308.
- COGBILL, E.C. et HOBBS, M.E., (1957), Transfer of metallic constituents of cigarettes to the main-stream smoke. Tobacco, 144, 24-29.
- COHEN, P.E. et LANSKY, G.S., (1961), Chromosome damage during nitrogen mustard therapy. Brit. Med. J., ii, 1055-1057.
- COOPER, W.F., (1963), The toxicity of metals. Factory and Plant. Melbourne, Vic., Australia, 54-56.

COTZIAS, G.C., BORG, D.C. et SELLECK, B., (1961), Virtual absence of turnover in cadmium metabolism : Cd¹⁰⁹ studies in the mouse. Amer. J. Physiol., 201, 927-930.

COTZIAS, G.C., BORG, D.C. et SELLECK, B., (1962), Specificity of zinc pathway through the body : turnover of Zn⁶⁵ in the mouse. Amer. J. Physiol., 202, 359-363.

COURT BROWN, W.M., JACOBS, P.A., et TOUGH, I.M., (1967), Problems encountered in undertaking population cytogenetic surveys, 114-121 in Human Radiation Cytogenetics. H.J. Evans, W.M. Court Brown, A.S. McLean, eds., North-Holland Publishing Co., Amsterdam.

CURTISS, H. et CROWLEY, C., (1963), Chromosome aberrations in liver cells in relation to the somatic mutation theory of aging. Rad. Res., 19, 337-344.

DAVIES, M.H., (1972), The monitoring and control of industrial exposure to lead. International Symposium Environmental Health Aspects of Lead, Amsterdam, 869-875.

DEAVEN, L.L. et CAMPBELL, E.W., (1976), Effects of cadmium on karyotype stability in chinese hamster ovary cells. Los Alamos Scientific Lab. N. Mex., 4p.

DEGRAEVE, N., (1971), Modification des effets du méthane sulfonate d'éthyl au niveau chromosomique, I. Les ions métalliques. Rev. Cytol. et Biol. vég., 34, 233-244.

DEKNUDT, Gh., COLLE, A. et GERBER, G.B., (1977), Chromosomal abnormalities in lymphocytes from monkeys poisoned with lead. Mut. Res., 45, 77-83.

DEKNUDT, Gh. et DEMINATTI, M., (1978), Chromosome studies in human lymphocytes after *in vitro* exposure to metal salts. Accepted for publication in Toxicologie.

DEKNUDT, Gh. et GERBER, G.B., (1978), Chromosome aberrations in the bone marrow of mice given different heavy metals in a normal or low calcium diet. In preparation.

DEKNUDT, Gh. et LEONARD, A., (1975), Cytogenetic investigations on leucocytes of workers from a cadmium plant. Environ. Physiol. Biochem., 5, 319-327.

DEKNUDT, Gh. et LEONARD, A., (1977), Ageing and radiosensitivity of human somatic chromosomes. Exp. Geront., 12, 237-240.

DEKNUDT, Gh., LEONARD, A. et DECAT, G., (1975), Influence of blood storage in glass or plastic bottles on the induction of chromosomal abnormalities by X-irradiation. Toxicol., 3, 87-90.

DEKNUDT, Gh., LEONARD, A. et IVANOV, B., (1973), Chromosome aberrations observed in male workers occupationally exposed to lead. Environ. Physiol. Biochem., 3, 132-138.

DEKNUDT, Gh., MANUEL, Y. et GERBER, G.B., (1977), Chromosomal aberrations in workers professionally exposed to lead. J. Toxicol. Environ. Health, 3, 885-891.

DELCARTE, E., NANGNIOT, P. et IMPENS, R., (1973), La détermination d'éléments métalliques dans les sols et les végétaux, en sites industriels et urbains. Annales de Gembloux, 79, 141-149.

DESOILLE, H. et PHILBERT, M., (1967), Intoxications professionnelles par les métaux lourds. Rev. praticien, 17, 2002-2022.

DE TREVILLE, R.T.P., (1964), Natural occurrence of lead. Arch. Environ. Health, 8, 212-221.

DHAESE, A., (1974), Beheersing van de groeiomstandigheden in industriezones en woongebieden. In "Naar een groenstrategie voor Vlaanderen", Gent, 27-28, sept., 343-356.

DIXON, R.L., LEE, I.P. et SHERINS, R.J., (1976), Methods to assess reproductive effects of environmental chemicals : Studies of cadmium and boron administered orally. Environ. Health Perspect., 13, 59-67.

DOYLE, J.J., PFANDER, W.H., CRENSHAW, D.B. et SNETHEN, J.M., (1974), Induction of chromosomal hypodiploidy in sheep leukocytes by cadmium. Interface, 31, 9.

EINBRODT, H.J., ROSMANITH, J., DELBECK, G. et AMORT, H., (1975), The Biological action of zinc in view of an immission limit for humans. V.D.I.-Berichte, 203, 38-43.

ELVES, M.W., BUTTOO, A.S. et ISRAELS, M.D., (1963), Chromosome changes caused by 6-azauridine during treatment of acute myeloblastic leukemia. Brit. Med. J., 1, 156-161.

ENGEL, R.E., HAMMER, D.I., HORTON, R.J.M., LANE, N.M. et PLUMLEE, L.A., (1971), Environmental lead and public health, Research Triangle Park, N.C., US Environmental Protection Agency.

Environnement, (1974), La pollution par le plomb et ses dérivés. La Documentation Française, Paris.

EPSTEIN, S.S., ARNOLD, E., ANDREA, J., BASS, W. et BISHOP, Y., (1972), Detection of chemical mutagens by the dominant lethal assay in the mouse. Toxicol. Appl. - Pharmacol., 23, 288-325.

EVANS, H.J., (1962), Chromosome aberrations induced by ionizing radiations. Int. Rev. Cytol., 13, 221-321.

EVANS, H.J., (1963), Chromosome aberrations and target theory, 8-40 in Radiation-Induced Chromosome Aberrations. S. Wolff, ed., Columbia Univ. Press, N.Y.

EVANS, H.J., (1967), Repair and recovery from chromosome damage induced by fractionated X-ray exposures, 482-501 in Radiation Research, North-

Holland Publishing Co., Amsterdam.

EVANS, H.J. et SAVAGE, R.K., (1963), The relation between DNA synthesis and chromosome structure as resolved by X-ray damage. *J. Cell Biol.*, 18, 525-540.

EVANS, H.J. et SCOTT, D., (1964), Influence of DNA synthesis on the production of chromatid aberrations by X-rays and maleic hydrazide in *Vicia faba*. *Genetics*, 49, 17-38.

EVERETT, J.C., DAY, C.L. et REYNOLDS, D., (1967), Comparative survey of lead at selected sites in the British Isles in relation to air pollution. *Food Cosmet. Toxicol.*, 5, 29-35.

FAIRHALL, L.T., (1957), *Industrial toxicology*. Williams and Wilkins, Baltimore, 30-33.

FALCHUK, K.H., FAWCETT, D.W. et VALLEE, B.L., (1975), Role of zinc in cell division of *Euglena Gracilis*. *J. Cell Sci.*, 17, 57-78.

FELDMAN, S.L. et COUSINS, R.J., (1973), Influence of cadmium on the metabolism of 25-hydroxycholecalciferol in chicks. *Nutr. Rep. Int.*, 8, 251-260.

FERM, V.H., (1969), The syneratogenic effect of lead and cadmium. *Experientia*, 25, 56-57.

FERM, V.H. et CARPENTER, S.J., (1967a), Developmental malformations resulting from the administration of lead salts. *Expl. mol. Path.*, 7, 208-213.

FERM, V.H. et CARPENTER, S.J., (1967b), Teratogenic effect of cadmium and its inhibition by zinc. *Nature*, 216, 1123.

FERM, V.H. et CARPENTER, S.J., (1968), The relationship of cadmium and zinc in experimental mammalian teratogenesis. *Lab. Invest.*, 18, 429-432.

- FERM, V.H. et FERM, D.W., (1971), The specificity of the teratogenic effect of lead in the golden hamster. *Life Sci.*, 10, 35-39.
- FINELLI, V.N., KLAUDER, D.S., KARAFFA, M.A. et PETERING, H.G., (1975), Interaction of zinc and lead on δ -aminolevulinatase dehydratase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 65, 303-311.
- FINELLI, V.N., MURTHY, L., PEIRANO, W.B. et PETERING, H.G., (1974), δ -aminolevulinatase dehydratase, a zinc dependent enzyme. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 60, 1418-1424.
- FISCHER, P., COLOB, E. et KUNZE-MÜHL, E., (1966), Chromosome aberrations in peripheral blood cells in man following chronic irradiation from internal deposits of Thorotrast. *Rad. Res.*, 29, 505-515.
- FISHBEIN, L., (1974), Toxicity of chlorinated biphenyls. *Ann. Rev. Pharmacol.*, 14, 139-156.
- FISHER, A.B., (1975), The effect of lead on cells cultivated *in vitro*. I. Acute effects. *Zbl. Bakt. Hyg.*, 161, 26-37.
- FLICK, D.F., KRAYBILL, H.F. et DIMITROFF, J.M., (1971), Toxic effects of cadmium. A review. *Environ. Res.*, 4, 71-85.
- FORNI, A., CAMBIAGHI, G. et SECCHI, G.C., (1976), Initial occupational exposure to lead. *Arch. Environ. Health*, 31, 73-78.
- FORNI, A. et SECCHI, G.C., (1972), Chromosome changes in preclinical and clinical lead poisoning and correlation with biochemical findings. *International Symposium Environmental Health Aspects of Lead*, Amsterdam, 473-485.
- FRANCIS, C.W., CHESTERS, G. et ERHARDT, W.H., (1968), ^{210}Po Polonium entry into plants. *Environ. Sci. Tech.*, 2, 690-695.

FRANCIS, C.W., CHESTERS, G. et HASKIN, L.A., (1970), Determinations of ^{210}Pb mean residence time in atmosphere. Environ. Sci. Tech., 4, 586-589.

FRIBERG, L., (1948), Proteinuria and kidney injury among workmen exposed to cadmium and nickel dust. J. Ind. Hyg. Toxicol., 30, 32-36.

FRIBERG, L., (1959), Chronic cadmium poisoning. Arch. Ind. Health, 20, 401-407.

FRIBERG, L., PISCATOR, M. et NORDBERG, G., (1971), Cadmium in the environment. A Toxicological and Epidemiological Appraisal. CRC Press, Cleveland, Ohio, 215.

FRIBERG, L., PISCATOR, M., NORDBERG, G.F. et KJELLSTRÖM, T., (1974), Cadmium in the environment. CRC Press, Cleveland, Ohio, 131-135.

GALE, T.F., (1973), The interaction of mercury with cadmium and zinc in mammalian embryonic development. Environ Res., 6, 95-105.

GIBSON, K.D., NEUBERGER, A. et SCOTT, J.J., (1955), The purification and properties of δ -aminolaevalic acid dehydrase. Biochem. J., 61, 618-629.

GILBERT, I.G.F. et TAYLOR, D.M., (1956), The behaviour of zinc and radio zinc in the rat. Biochem. Biophys. Acta, 21, 545-551.

GILLIAVOD, N. et LEONARD, A., (1975), Mutagenicity tests with cadmium in the mouse. Toxicology, 5, 43-47.

GLÄSS, E., (1955), Untersuchungen über die Einwirkung von Schwermetallsalzen auf die Wurzelspitzenmitose von *Vicia faba*. Z. f. Botanik, 43, 359-403.

GLÄSS, E., (1956a), Untersuchungen über die Einwirkung von Schwermetallsalzen auf die Wurzelspitzenmitose von *Vicia faba*. Z. f. Botanik, 44, 1-58.

GLÄSS, E., (1956b), Die Verteilung von Fragmentationen und achromatischen Stellen auf den Chromosomen von *Vicia faba* nach Behandlung mit Schwermetallsalzen. *Chromosoma*, 8, 260-284.

GRANICK, S. et LEVERE, R.D., (1964), Hemesynthesis in erythroid cells. *Progr. Hematol.*, 4, 1-47.

GREEN, S., PALMER, K.A. et OSWALD, E.J., (1973), Abstr. 12th Ann. Meet. Soc. Toxicol., New York, March, 18.

GRIGGS, R.C., (1964), Lead poisoning : Hematologic aspects. In C.V. Moore and E.B. Brown, Eds., *Progress in Haematology*. Vol. IV, 117-137. New York : Grune & Stratton, Inc.

GUNN, S.A., GOULD, T.C. et ANDERSON, W.A.D., (1963), Cadmium-induced interstitial cell tumors in rats and mice and their prevention by zinc. *J. Nat. Canc. Inst.*, 31, 745-759.

GUNN, S.A., GOULD, T.C. et ANDERSON, W.A.D., (1967), Specific response of mesenchymal tissue to cancerigenesis by cadmium. *Arch. Pathol.*, 83, 493-499.

GURBA, P.E., SENNETT, R.E. et KOBES, R.D., (1972), Studies on the mechanism of action of δ -aminolevulinatase dehydratase from bovine and rat liver. *Arch. Biochem. Biophys.*, 150, 130-136.

HADDOW, A., ROE, F.J.C., DUKES, C.E. et METCHLEY, B.C.V., (1964), Cadmium neoplasia : Sarcomata at the site of injection of cadmium sulphate in rats and mice. *Brit. J. Canc.*, 18, 667-673.

HAEGER-ARONSON, B., (1960), Studies on urinary excretion of δ -amino-laevulic acid and other haem precursors in lead workers and lead-intoxicated rabbits. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 12 (Suppl. 47), 1-128.

HAEGER-ARONSEN, B., ABDULLA, M. et FRISTEDT, B.I., (1971), Effect of lead on δ -aminolevulinic acid dehydratase activity in red blood cells.

Arch. Environ. Health, 23, 440-445.

HAGHIRI, (1973), Cadmium uptake by plants. J. Environ. Qual., 2, 93-96.

HAM, R.G., (1963), An improved nutrient solution for diploid chinese hamster and human cell lines. Exp. Cell. Res., 29, 515-526.

HAMERTON, J.L., TAYLOR, A.I. et ANGELL, R., (1965), Chromosome investigations of a small isolated human population : chromosome abnormalities and distribution of chromosome counts according to age and sex among the population of Tristan Da Cunha. Nature, 206, 1232-1234.

HARNDEN, D.G., (1964), Cytogenetic studies on patients with virus infection and subjects vaccinated against yellow fever. Amer. J. Human Genet., 16, 204-213.

HARRIS, E.J., (1972), A survey of the total cadmium content of 406 fishes from 49 New York States fresh waters. Canada Fisheries Research Board. Ottawa Journal, 29, 1283-1290.

HEATH, J.C., DANIEL, M.R., DINGLE, J.T. et WEBB, M., (1962), Cadmium as a carcinogen. Nature, 193, 592-593.

HEDDLE, J.A., EVANS, H.J. et SCOTT, D., (1967), Sampling time and the complexity of the human leucocyte system, 6-19 in Human Radiation Cytogenetics. H.J. Evans, W.M. Court Brown, A.S. McLean, eds., North-Holland Publishing Co., Amsterdam.

HENNIG, A. et ANKE, M., (1964), Kadmium-Antimetabolit des Eisens und Zinks. Arch. Tierernachr., 14, 55-57.

HERICH, R., (1969a), Effect of zinc on Mitosis. Naturwissenschaften, 56, 5, 286-287.

HERICH, R., (1969b), The effect of zinc on the structure of chromosomes and on mitosis. *The nucleus*, 12, 81-85.

HERNBERG, S. et NIKKANEN, J., (1970), Enzyme inhibition by lead under normal urban conditions. *Lancet*, 1, 63-64.

HESSLER, A., (1975), The effects of lead on algae. II. Mutagenesis experiments on *platymonas subcordiformis*. *Mut. Res.*, 31, 43-47.

HETTICHE, H.O., (1964), Benzpyrene and trace elements in urban air. *J. Air Water Poll.*, 8, 185-191.

HILL, A.B., (1965), The environment and disease : Association or causation ? *Proc. Roy. Soc. Med.*, 58, 295-300.

HODGEN, G.D., BUTLER, W.R. et GOMES, W.R., (1969a), *In vivo* and *in vitro* effects of cadmium chloride on carbonic anhydrase activity. *J. Reprod. Fertil.*, 18, 156-157.

HODGEN, G.D., GOMES, W.R. et VANDEMARK, N.L., (1969b), Carbonic anhydrase isoenzymes in rat erythrocytes, kidney and testis. *Fed. Proc.*, 28, 773.

HOOPINGARNER, R., SAMUEL, A. et KRAUSE, D., (1972), Polychlorinated biphenyl interactions with tissue culture cells. *Environ. Health Perspect.*, 1, 155-158.

HOWARD, A., et PELC, S.R., (1953), Synthesis of desoxyribonucleic acid in normal and irradiated cells and its relation to chromosome breakage. *Heredity*, 6, Suppl., 261-273.

HSU, F.S., KROOK, L., POND, W.G. et DUNCAN, J.R., (1975), Interactions of dietary calcium with toxic levels of lead and zinc in pigs. *J. Nutr.*, 105, 112-118.

HUFFMAN, E.W.D., Jr., (1973), Distribution of cadmium and zinc/cadmium ratios in crops from 19 states east of the Rocky Mountains. J. Environ. Qual., 2, 289-291.

HUMPERDINCK, K., (1968), Kadmium and Lungenkrebs. Med. Klin., 63, 948-951.

HURLEY, L.S. et SWENERTON, H., (1966), Congenital malformations resulting from zinc deficiency in rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 123, 692-697.

HURLEY, L.S. et TAO, S.H., (1972), Alleviation of teratogenic effects of zinc deficiency by simultaneous lack of calcium. Am. J. Phys., 222, 322-325.

IMPENS, R., (1974), Presence de plomb dans l'environnement. Annales de Gembloux, 80, 173-185.

IMPENS, R., M' VUNZU, Z. et NANGNIOT, P., (1972), Détermination du plomb sur les végétaux croissant en bordure des autoroutes. International Symposium Environmental Health Aspects of Lead, Amsterdam, 135-143.

International Standards for Drinking-Water, (1971), 3rd ed., Geneva, World Health Organization.

ISHIHARA, T. et KUMATORI, T., (1966), Polyploid cells in human leukocytes following *in vivo* and *in vitro* irradiation. Cytologia, 31, 59-68.

ITOKAWA, Y., ABE, T., TABEI, R. et TANAKA, S., (1974), Renal and skeletal lesions in experimental cadmium poisoning. Arch. Environ. Health, 28, 149-154.

IVANOV, B., LEONARD, A. et DEKNUDT, Gh., (1973), Blood storage and the rate of chromosome aberrations after *in vitro* exposure to ionizing radiations. Rad. Res., 55, 469-476.

JACOBS, P.A., BRUNTON, M. et COURT BROWN W.M., (1963), Change of human chromosome count distributions with age ; evidence for a sex difference. *Nature*, 197, 1080-1081.

JACOBS, P.A., COURT BROWN, W.M. et DOLL, R., (1961), Distribution of human chromosome counts in relation to age. *Nature*, 191, 1178-1180.

JACQUET, P., LEONARD, A. et GERBER, G.B., (1977), Cytogenetic investigations on mice treated with lead. *J. Tox. Environ. Health*, 2, 619-624.

JAMES, L.F., LAZAR, V.A. et BINNS, W., (1966), Effects of sublethal doses of certain minerals on pregnant ewes and fetal development. *Am. J. Vet. Res.*, 27, 132-135.

JANDL, J.H., INMAN, J.K., SIMMONS, R.L. et ALLEN, D.W., (1959), Transfer of iron from serum iron-binding protein to human reticulocytes. *J. Clin. Invest.*, 38, 161-185.

JENSEN, W.N., MORENO, G.D. et BESSIS, M.C., (1965), An electron microscopic description of basophilic stippling in red cells. *Blood*, 25, 933-943.

JOHN, M.K., (1972), Uptakes of soil-applied cadmium and its distribution in radishes. *Canad. J. Plant Sci.*, 52, 715-719.

KAGI, J.H.R. et VALLEE, B.L., (1961), Metallothionein : A cadmium and zinc-containing protein from equine renal cortex. II. Physico-chemical properties. *J. Biol. Chem.*, 236, 2435-2442.

KAZANTZIS, G., (1956), Respiratory function in men casting cadmium alloys. I. Assessment of ventilatory function. *Brit. J. Ind. Med.*, 13, 30-40.

KAZANTZIS, G., (1963), Induction of sarcoma in the rat by cadmium sulphide pigment. *Nature*, 198, 1213-1214.

KEHOE, R.A., (1960), The metabolism of lead in man in health and disease. The Harben Lectures.

KEHOE, R.A., (1961), Experimental studies on the inhalation of lead by human subjects. Pure Appl. Chem., 3, 129-144.

KEHOE, R.A., (1964), Normal metabolism of lead. Arch. Environ. Health, 8, 232-243.

KEILIN, D. et MANN, T., (1940), Carbonic anhydrase. Purification and nature of the enzyme. Biochem. J., 34, 1163-1176.

KENNEDY, G.L. et ARNOLD, D.W., (1971), Absence of mutagenic effects after treatment of mice with lead compounds. E.M.S. Newsletter, 5, 37.

KENNEDY, G., ARNOLD, D., KEPLINGER, M.L. et CALANDRA, J.C., (1971), Mutagenic and teratogenic studies with lead acetate and tetraethyl lead. Toxicol. appl. Pharmacol., 19, 370.

KEPLINGER M.L., (1971), PCB Conf. Quail Roost. Conf. Center, Rougemont, NC, Dec.

KIHLMAN, B.A., (1966), The Actions of Chemicals on Dividing Cells. Prentice Hall, Inc., N.J.

KIMURA, M., OTAKI, N., YOSHIKI, S., SUZUKI, M., HORIUCHI, N. et SUDA, T., (1974), The isolation of metallothionein and its protective role in cadmium poisoning. Arch. Biochem. Biophys., 165, 340-348.

KIPLING, M.J. et WATERHOUSE, J.A.M., (1967), Cadmium and prostatic carcinoma. Lancet, 1, 730.

KIRCHNER, H. et RÜHL, H., (1970), Stimulation of human peripheral lymphocytes by Zn^{2+} *in vitro*. Exp. Cell Res., 61, 229-230.

KLOKE, A., (1971), Cadmium in Boden und Pflanze. Ein Beitrag zum Thema "Umweltschutz". Nachrichtenbl. Deutsch. Pflanzenschutzd., 23, 164-167.

KLOKE, A. et RIEBARTSCH, K., (1964), Verunreinigung von Kulturpflanzen mit Blei aus Kraftfahrzeugabgasen. Naturwissenschaften, 51, 367-368.

KOHN, R.R., (1966), In Radiation and Ageing (Edited by P.J. Lindop and G.A. Sacher), 373-392. Taylor and Francis, London.

KOSTIAL, K., SIMONOVIC, I. et PISONIC, M., (1971), Reduction of lead absorption from the intestine in newborn rats. Environ. Res., 4, 360-363.

KUCEROVA, M., POLIVKOVA, Z. et HRADCOVA, L., (1976), Influence of diagnostic roentgen doses on human chromosomes and influence of age on the aberration yield. Acta radiol. Therapy Phys. Biol., 15, 91-96.

KURATSUNE, M., YOSHIMURA, T., MATSUZAKA, J. et YAMAGUCHI, A., (1972), Epidemiologic study of Yusho, a poisoning caused by ingestion of rice oil contaminated with a commercial brand of polychlorinated biphenyls. Environ. Health Perspec., 1, 119-128.

LAFONTAINE, A., AERTS, J., BRUAUX, P., CLAEYS-THOREAU, F., IMPENS, R., MATHY, P., ROELS, H. et VAN BRUWAENE, R., (1977), Le plomb dans l'environnement en Belgique. Arch. Belges Med. Soc., Hyg., Med. Trav., Med. Leg., 1-2, 1-127.

LAGERWERFF, J.V. et SPECHT, A.W., (1970a), Contamination of roadside soil and vegetation with cadmium, nickel, lead and zinc. Environ. Sci. Tech., 4, 583-586.

LAGERWERFF, J.V. et SPECHT, A.W., (1970b), Occurrence of environmental cadmium and zinc and their uptake by plants. U.S. Soils laboratory USDA-ARS-SWC, Betsville, Maryland.

LAJTHA, L.G., (1963), On the concept of the cell cycle. J. Cell. Comp. Physiol., 62, Suppl. 1, 143-145.

LANE, R.E., (1965), Health hazards from metals in industry. Ann. occupat. Hyg., 8, 5-11.

LANG, K., (1952), Die Ernährung. Edited by R.F.A. Dean and W. Dimair. Springer-Verlag, Heidelberg, Berlin.

LANGMANN, R. et KETTNER, H., (1968), Gefahren und Bekämpfung des Zinkoxides in der Luft. Das öffentl. Gesundheitswes., 30, 195-198.

LARSSON, S.E. et PISCATOR, M., (1971), Effect of cadmium on skeletal tissue in normal and calcium-deficient rats. Israel J. Med. Sci., 7, 495-498.

LAUVERYS, R., BUCHET, J.P. et ROELS, H., (1973), Effects subcliniques de l'exposition humaine au cadmium. Commission of the European Communities, European Colloquium, Luxembourg, 447-462.

LAZRUS, A.L., LORANGE, E. et LODGE, J.P., Jr., (1970), Lead and other metal ions in United States precipitation. Environ. Sci. Technol., 4, 55-58.

LEH, H.O., (1969), Ernährungsstörungen : Die nichtparasitären Pflanzenkrankheiten. Handbuch d. Pflanzenkrankh., Verlag P. Parey, Berlin and Hamburg, 289-333.

LENER, J. et BIBR, B., (1971), Cadmium and hypertension. Lancet, 1, 970.

LEONARD, A., (1978), Aperçu des risques génétiques présentés par les toxiques industriels. Cahiers de Médecine du travail (Sous presse).

LEONARD, A., DEKNUDT, Gh. et DEBACKERE, M., (1974), Cytogenetic investigations on leucocytes of cattle intoxicated with heavy metals. Toxicol., 2, 269-273.

LEONARD, A., LINDEN, G. et GERBER, G.B., (1972), Etude, chez la souris, des effets génétiques et cytogénétiques d'une contamination par le plomb. International Symposium Environmental Health Aspects of Lead, Amsterdam, 303-309.

LEVAN, A., (1945), Cytological reactions induced by inorganic salt solutions. Nature, 751-752.

LEWIS, G.P., JUSKO, W.J., COUGHLIN, L.L. et HARTZ, S., (1972), Cadmium accumulation in man : influence of smoking, occupation, alcoholic habit and disease. J. Chron. Dis., 25, 717-726.

LICHTMAN, H.C. et FELDMAN, F., (1963), *In vitro* pyrrole and porphyrin synthesis in lead poisoning and iron deficiency. J. Clin. Invest., 41, 830-839.

LINDGREN, M. et NORRYD, C., (1962), Chromosome aberrations in one of a pair of identical twins after Roentgen irradiation of the spine. Hereditas, 48, 688-698.

LINIECKI, J., BAJERSKA, A. et ANDRYSZEK, C., (1971), Chromosomal aberrations in human lymphocytes irradiated *in vitro* from donors (males and females) of varying age. Int. J. Rad. Biol., 19, 349-360.

LIVINGSTONE, D.A., (1963), Chemical composition of rivers and lakes, G1-G64. Geological Survey Professional Paper 440-G. In M. Fleischer, Ed. Data of Geochemistry (6th ed.), Washington, D.C. : U.S. Government Printing Office.

LOWER, W.R., (1975), Gene frequency differences in *Drosophila melanogaster* associated with lead smelting operations. Mut. Res., 31, 315.

LUBS, H.A. et SAMMELSON, J., (1967), Chromosome abnormalities in lymphocytes from normal human subjects. Cytogenetics, 6, 402-411.

LUCIS, O.J., LUCIS, R. et SHAIKH, Z.A., (1972), Cadmium and zinc in pregnancy and lactation. Arch. Environ. Health, 25, 14.

MAHAFFEY, K.R., GOYER, R.A. et HASEMAN, J.K., (1973), Dose-response to lead ingestion in rats fed low dietary calcium. J. Lab. Clin. Med., 82, 92-100.

MALCOLM, D., (1972), Potential carcinogenic effect of cadmium in animals and man. Ann. Occup. Hyg., 15, 33-36.

MARCEL, Y.L. et NOEL, S.P., (1970), Contamination of blood stored in plastic paks. Lancet, 1, 35-36.

MARTSON, L.V. et PILINSKAYA, M.A., (1971), On hygienic characteristics of working conditions in production of Ziram. Hyg. Sanit. (USSR), 36, 458-460.

MASON, K.E. et YOUNG, J.O., (1967), Effectiveness of selenium and zinc in protecting against cadmium-induced injury of the rat testis. 1st Int. Symp. Selenium in Bio-medicine, 383-394. Avi Publ. Co., Westport Conn., U.S.A.

MATHIES, J.C., (1958), Preparation and properties of highly purified alkaline phosphatase from swine kidneys. J. Biol. Chem., 23, 1121-1127.

MATHY, P., (1974), Le cadmium dans l'environnement. Annales de Gembloux, 80, 227-237.

MATSANIOTIS, N., KIOSSOGLOU, K.A., MAOUNIS, F. et ANAGNOSTAKIS, D.E., (1966), Chromosomes in infectious hepatitis. Lancet, ii, 1421.

MAXILD, J., ANDERSEN, M. et KIEL, P., (1978), Mutagenicity of fume particles from metal arc welding on stainless steel in the *Salmonella*/microsome test. Mut. Res., 56, 235-243.

- MAYER, F.L., Jr., STALLING, D.L. et JOHNSON, J.L., (1972), Phthalate esters as environmental contaminants. *Nature*, 238, 411-413.
- MAYNEORD, W.V., TURNER, R.C. et RADLEY, J.M., (1960), Alpha-activity of certain botanical materials. *Nature*, 187, 208-211.
- McCLAIN, R.M. et BECKER, B.A., (1970), Placental transport and teratogenicity of lead in rats and mice. *Fed. Proc.*, 29, 347.
- McCLAIN, R.M. et BECKER, B.A., (1972), Effects of organolead compounds on rat embryonic and fetal development. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 21, 265-274.
- McCLAIN, R.M. et BECKER, B.A., (1975), Teratogenicity, fetal toxicity, and placental transfer of lead nitrate in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 31, 72-82.
- McFEE, A.F., BANNER, M.W. et SHERRILL, M.N., (1970), Influence of animal age on radiation-induced chromosome aberrations in swine leucocytes. *Rad. Res.*, 41, 425-435.
- MICHELS, S., CROSSMAN, G. et SCHOLL, G., (1975), On the contamination of foods with heavy metals. *V.D.I.-Berichte*, 203, 75-77.
- MILLARD, R.E., (1965), Abnormalities of human chromosomes following therapeutic irradiation. *Cytogenetics*, 4, 277-294.
- MOORE, J.G. VAN CAMPENHOUT, J.L. et BRANDKAMP, W.W., (1964), Effects of ionizing irradiation and chemotherapeutic agents on human chromosomes. *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, 88, 985-1000.
- MOORHEAD, P.S., NOWELL, P.C., MELLMAN, W.J., BATTIJS, D.M. et HUNGERFORD, D.A., (1960), Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp. Cell. Res.*, 20, 613-616.
- MOTTO, H.L., DAINES, R.H., CHILKO, D.M. et MOTTO, C.K., (1970), Lead in soils and plants : Its relationship to traffic volume and proximity to high-

ways. Environ. Sci. Tech., 4, 231-238.

MOURIQUAND, C., GILLY, C. et PATEL, J., (1967), Etude de 1000 caryotypes chez des sujets non irradiés. Compt. rend. des Séances Soc. Biol., 161, 341.

MOURIQUAND, C., GILLY, C. et WOLFF, C., (1972), Ultrastructure du chromosome : Données fournies par l'observation du chromosome entier. Ann. Génét., 15, N° 4, 249-256.

MOUSCHEN-DAHMEN, J.M., (1963), Influence of Cu^{++} and Zn^{++} Ions on the effects of ethyl methanesulfonate (EMS) on chromosomes. Experientia, 3, 144-145.

MULLER, H.J., (1927), Artificial transmutation of the gene. Science, 66, 84.

MURO, L.A. et GOYER, R.A., (1969), Chromosome damage in experimental lead poisoning. Arch. Path., 87, 660-663.

MUROZUMI, M., CHOW, T.J. et PATTERSON, C., (1969), Chemical concentrations of pollutant lead aerosols, terrestrial dusts, and sea salts in Greenland and Antarctic snow strata. Geochim. Cosmochim. Acta, 33, 1247-1294.

NAGY, Z., MILE, I. et ANTONI, F., (1975), The mutagenic effect of pesticides on *Escherichia coli* WP2 try⁻. Acta microbiol. Acad. Sci. hung., 22, 309-314.

NASJLETI, C.E. et SPENCER, H.H., (1966), Chromosome damage and polyploidization induced in human peripheral leukocytes *in vivo* and *in vitro* with nitrogen mustard, 6-Mercaptopurine, and A-649. Canc. Res., 26, Part I, 2437-2443.

NASJLETI, C.E., WALDEN, J.M. et SPENCER, H.H., (1965), Polyploidy and endoreduplication induced *in vivo* and *in vitro* in human leukocytes with N, N'-bis (3bromopropionyl) piperazine (A.8103). Canc. Res., 25, 275-285.

National Academy of Sciences, (1974), Geochemistry and Environment I, 43-56.

National Air Sampling Network, (1966), Air Quality Data. U.S. Department of Health, Education and Welfare, Public Health Service, Division of Air Pollution, Cincinnati, Ohio.

Nations Unies, (1969), Rapport du comité scientifique des Nations Unies pour l'étude des effets des rayonnements ionisants. A/7613, 169.

NICHOLS, W.W., (1966), Studies on the role of viruses in somatic mutation. Hereditas, 55, 1-27.

NICHOLS, W.W., LEVAN, A. et AULA, P., (1965), Chromosome damage with the measles virus *in vitro*. Hereditas, 54, 101-118.

NICHOLS, W.W., LEVAN, A. et HALL, B., (1962), Measles-associated chromosome breakage. Preliminary communication. Hereditas, 48, 368-370.

NIKLOWITZ, W.J., (1975), Lead : The perspectives of childhood encephalopathy, persistent neurological sequelae, and Alzheimer's disease. Neuroscience abstracts, 1, 1081.

NIKLOWITZ, W.J. et YEAGER, D.W., (1973), Interference of Pb with essential brain tissue Cu, Fe, and Zn as main determinant in experimental tetraethyllead encephalopathy. Life Sci., 13, 897-905.

NILSSON, R., (1970), Aspects on the toxicity of cadmium and its compounds. A review. Bull. Ecol. Res., 4, 1-58.

NISHIOKA, H., (1974), Mutagenesis of metal compounds in bacteria. Mut. Res., 26, 437-438.

NISHIOKA, H., (1975), Mutagenic activities of metal compounds in bacteria. Mut. Res., 31, 185-189.

NORDBERG, G.F., (1976), Effects and dose-response relationships of toxic metals. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam.

NORDBERG, G.F., NORDBERG, M., PISCATOR, M. et VESTERBERG, O., (1972), Separation of two forms of rabbit metallothionein by isoelectric focusing. *Biochem. J.*, 126, 491-498.

NOWELL, P.C., (1960), Phytohemagglutinin : An Initiator of Mitosis in Cultures of Normal Human Leukocytes. *Can. Res.*, 20, 462-466.

O'DELL, B.L., (1969), Effect of dietary components upon zinc availability : A review with original data. *Am. J. Clin. Nutr.*, 22, 1315-1322.

OEHLKERS, F., (1953), Chromosome breaks influenced by chemicals. *Heredity, Suppl.*, 6, 95-105.

OHNUKI, Y.A., AWA, C.M. et POMERAT, C.M., (1961), Chromosomal studies on irradiated leukocytes *in vitro*. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 95, 882-900.

O.M.S., (1972), Evaluation de certains additifs alimentaires et des contaminants : Mercure, Plomb et Cadmium. Seizième rapport du Comité Mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires. Rapport technique, 505.

O'RIORDAN, M.L. et EVANS, H.J., (1974), Absence of significant chromosome damage in males occupationally exposed to lead. *Nature*, 247, 50-53.

ORTZONSEK, N., (1967), The activity of heme ferro-lyase in rat liver and bone marrow in experimental lead poisoning. *Int. Arch. Gewerbepathol.*, 24, 66-73.

PARIZEK, J., (1957), The destructive effect of cadmium ion on testicular tissue and its prevention by zinc. *J. of Endocrinol.*, 15, 56-63.

- PATON, G.R. et ALLISON, A.C., (1972), Chromosome damage in human cell cultures induced by metal salts. *Mut. Res.*, 16, 332-336.
- PATTERSON, C.C., (1965), Contaminated and natural lead environments of man. *Arch. Environ. Health*, 11, 344-363.
- PEAKALL, D.B., LINCER, J.L. et BLOOM, S.E., (1972), Embryonic mortality and chromosomal alterations caused by Aroclor 1254 in ring doves. *Environ. Health Perspect*, 1, 103-104.
- PETERING, H.G., JOHNSON, M.A. et STEMMER, K.L., (1971), Studies of zinc metabolism in the rat. *Arch. environ. Health*, 23, 93-101.
- PETRI, H. et GROHMANN, A., (1971), Die gesundheitliche Bedeutung des Zinks als Umweltfaktor des Menschen speziell in der Trinkwasserversorgung. *Wa. Bo. Lu.-Bericht*, 7, 1-22.
- PILINSKAYA, M.A., (1970), Chromosome aberrations in the persons contacted with Ziram. *Genetika*, 6, 157-163.
- PILINSKAYA, M.A., (1971), Cytogenetic effect of the fungicide Ziram in the culture of human lymphocytes *in vitro*. *Genetika*, 7, 138-143.
- PILINSKAYA, M.A., (1974), Results of cytogenetic examination of persons occupationally contacting with the fungicide Zineb. *Genetika*, 10, 140-146.
- PISCATOR, M., (1962), Proteinuria in chronic cadmium poisoning. I. An electrophoretic and chemical study of urinary and serum proteins from workers with chronic cadmium poisoning. *Arch. Environ. Health*, 4, 607-621.
- PISCATOR, M., (1966), Proteinuria in chronic cadmium poisoning. III. Electrophoretic and immunoelectrophoretic studies on urinary proteins from cadmium workers, with special reference to the excretion of low molecular weight proteins. *Arch. Environ. Health*, 12, 335-344.

PISCATOR, M. et LIND, B., (1972), Cadmium, Zinc, Copper and Lead in human renal cortex. Arch. of Environ. Health, 24, 426-431.

PISCIOTTA, A.U., WESTRING, D.W., DEPREY, C. et WALSH, N., (1967), Mitogenic effect of phytohaemagglutinin at different ages. Nature, 215, 193-194.

POND, W.G., WALKER, E.F. Jr. et KIRTLAND, D., (1973), Cadmium-induced anemia in growing pigs : protective effect of oral or parenteral iron. J. Anim. Sci., 36, 1122-1124.

POTTS, C.L., (1961), Cadmium proteinuria. The health of battery workers exposed to cadmium oxide dust. Amer. Occup. Hyg., 8, 55-61.

QUENTIN, H., (1972), Acute and Chronic toxicity of Cadmium to the fathead minnow (*Pimephales promelas*). Canada Fisheries Research Board. Ottawa Journal, 29, 1099-1106.

RAMEL, C., (1973), The effect of metal compounds on chromosome segregation. Mut. Res., 21, 45-46.

RAPPE, A., (1973), Itai-Itai. L'homme et la nature, 9, 5-6.

REVELL, S.H., (1959), The accurate estimation of chromatid breakage, and its relevance to a new interpretation of chromatid aberrations induced by ionizing radiations. Proc. Roy. Soc. B (Lond.), 150, 563-589.

RIEGER, R. et MICHAELIS, A., (1967), Die Chromosomenmutationen, Gustav Fischer, Jena.

ROE, F.J.C., DUKES, C.E., CAMERON, K.M., PRIGH, R.C.B. et MITCHLEY, B.C.V., (1964), Cadmium neoplasia : Testicular atrophy and leydig cell hyperplasia and neoplasia in rats and mice following the subcutaneous injection of cadmium salts. Brit. J. Can., 18, 674-681.

RÖHR, G. et BAUCHINGER, M., (1976), Chromosome analyses in cell cultures of the chinese hamster after application of cadmiumsulphate. *Mut. Res.*, 40, 125-130.

RUBIN, M.E., MONTALVO, G., LOCKHART, C.P. et JOHNSON, C.R., (1961), Metabolism of zinc-65. *Amer. J. Physiol.*, 200, 1345-1348.

RUPOSHEV, A.R., (1976), Cytogenetic effect of heavy metal ions on *Crepis capillaris* L. seeds. *Genetika*, 12, 37-43.

SAEGER, R.J. et RUBIN, R.J., (1970), *Lancet*, 2, 151.

SANO, S., (1958), The effect of mitochondria on porphyrin and heme biosynthesis in red blood cells. *Acta Haematol. Jap.*, 21 (Suppl. 2), 337-351.

SASAKI, M.S., TONOMURA, A. et MATSUBARA, S., (1970), Chromosome constitution and its bearing on the chromosomal radiosensitivity in man. *Mut. Res.*, 10, 617-633.

SATHAIAH, V. et REDDY, P.V., (1973), Chromosome spreading by zinc ethylene bisdithiocarbamate "Zineb Ciba". *Current Science*, 42, 143-144.

SCHARPF, L.G., Jr., HILL, I.D., WRIGHT, P.L., PLANK, S.B., KEPLINGER, M.L. et CALANDRA, J.C., (1972), Effect of sodium nitrilotriacetate on toxicity, teratogenicity, and tissue distribution of cadmium. *Nature*, 239, 231-233.

SCHEID, W. et TRAUT, H., (1971), Visualization of achromatic lesions (gaps) induced by X-rays in chromosomes of *Vicia faba* by staining of chromosomal proteins. *Mut. Res.*, 12, 97-99.

SCHIMMEL, D.W. et LAURIE, E.A., (1972), Lead and zinc contamination of vegetation in the Southern Pennines. *Environ. Pollut.*, 291-301.

SCHMID, E., BAUCHINGER, M., PIETRUCK, S. et HALL, G., (1972), Die cyto-genetische Wirkung von Blei in menschlichen peripheren Lymphocyten *in Vitro*

und *in Vivo*. Mut. Res., 16, 401-406.

SCHORMULLER, J., (1961), Handbuch der Lebensmittelchemie. Springer-Verlag, Heidelberg, Berlin.

SCHROEDER, H.A., (1966), J. Amer. Med. Ass., 195, 81-85.

SCHROEDER, H.A., (1967), Cadmium, chromium and cardiovascular disease. Circulation, 35, 570-582.

SCHROEDER, H.A. et BALASSA, J.J., (1961), Abnormal trace metals in man : Cadmium. J. Chron. Dis., 14, 236-258.

SCHROEDER, H.A., BALASSA, J.J., GIBSON, F.S., VALANJU, S.N., BRATTLEBORO, V. et HANOVER, N.H., (1961), Abnormal trace metals in man : Lead. J. Chron. Dis., 14, 408-425.

SCHROEDER, H.A., HANOVER, N.H. et BRATTLEBORO, V., (1970), A sensible look at air pollution by metals. Arch. Environ. Health, 21, 798-806.

SCHROEDER, H.A. et MITCHENER, M., (1971), Toxic effects of trace elements on the reproduction of mice and rats. Arch. Environ. Health, 23, 102-106.

SCHROEDER, H.A., NASON, A.P., TIPTON, I.H. et BALASSA, J.J., (1967), Essential trace metals in man : zinc. Relation to environmental cadmium. J. Chron. Dis., 20, 197-210.

SCHROEDER, H.A. et TIPTON, I.H., (1968), The human body burden of lead. Arch. Environ. Health, 17, 965-978.

SCHWANITZ, G., GEBHART, E., ROTT, H.D., SCHALLER, K.H., ESSING, H.G., LAUER, O. et PRESTELE, H., (1975), Chromosomenuntersuchungen bei Personen mit beruflicher Bleiexposition. Deut. Med. Wschr., 18, 1007-1011.

SCHWANITZ, G., LEHNERT, G. et GEBHART, E., (1970), Chromosomenschäden bei beruflicher Bleibelastung. Deut. Med. Wschr., 95, 1636-1641.

SCOTT, D. et EVANS, H.J., (1967), X-ray-induced chromosomal aberrations in *Vicia faba* : changes in response during the cell cycle. Mut. Res., 4, 579-599.

SHAIKH, Z.A. et LUCIS, O.J., (1972), Cadmium and zinc binding in mammalian liver and kidney. Arch. of Environ. Health, 24, 418-422.

SHELINE, G.E., CHAIKOFF, I.L., JONES, H.B. et MONTGOMERY, M.L., (1943), Studies on the metabolism of zinc with the aid of its radioactive isotope. I. The excretion of administered zinc in urine and feces. J. Biol. Chem., 147, 409-414.

SHIELS, D.O., (1954), The elimination of lead in sweat. Australas. Ann. Med., 3, 225-229.

SHIMADA, T., WATANABE, T. et ENDO, A., (1976), Potential mutagenicity of cadmium in mammalian oocytes. Mut. Res., 40, 389-396.

SHIRAISHI, Y., (1975), Cytogenetic studies in 12 patients with Itai-Itai disease. Humangenetik, 27, 31-44.

SHIRAISHI, Y., KURAHASHI, H. et YOSIDA, T.H., (1972), Chromosomal aberrations in cultured human leucocytes induced by cadmium sulfide. Proc. Japan Acad., 48, 133-137.

SHIRAISHI, Y. et YOSIDA, T.H., (1972), Chromosomal abnormalities in cultured leucocyte cells from Itai-Itai Disease Patients. Proc. Japan Acad., 48, 248-251.

SHIRASU, Y., MORIYA, M., KATO, K., FURUHASHI, A. et KADA, T., (1976), Mutagenicity screening of pesticides in the microbial system. Mut. Res., 40, 19-30.

- SILBERGELD, E.K., FALES, J.T. et GOLDBERG, A.M., (1974), Evidence for a Junctional effect of lead on neuromuscular function. *Nature*, 247, 49-50.
- SMITH, H.A., (1966), How sensitive and how appropriate are our current standards of normal and safe body content of lead. In : Symposium on Environmental Lead Contamination, Washington, D.C., US Department of Health, Education, and Welfare (USPHS Publication N° 1440).
- SNOWDON, C.T. et SANDERSON, B.A., (1974), Lead Pica produced in rats. *Science*, 183, 92-94.
- SORSA, M. et PFEIFER, S., (1973), Effects of cadmium on development time and prepupal puffing pattern of *Drosophila melanogaster*. *Hereditas*, 71, 273-277.
- SPERLING, K., WEISS, G., MÜNZER, M. et OBE, G., (1970), Chromosomenuntersuchung und blüexponierten Arbeitern. "Arbeitsgruppe Blei" der Kommission für Umweltgefahren des Bundesgesundheitsamtes, Berlin.
- STARA, J.F., (1973), Gastrointestinal absorption of different compounds of ^{115}Cd and the effect of different concentrations in the rat. *Environ. Res.*, 65, 159-164.
- STEFFENSEN, D., (1955), Breakage of chromosomes in *tradescantia* with a calcium deficiency. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 41, 155-160.
- SUDA, T., HORIUCHI, N., OGATA, E., EZAWA, I., OTAKI, N. et KIMURA, M., (1974), Prevention by metallothionein of cadmium-induced inhibition of vitamin D activation reaction in kidney. *FEBS Lett.*, 42, 23-26.
- SUTER, K.E., (1975), Studies on the dominant lethal and fertility effects of the heavy metal compounds methylmercuric hydroxide, mercuric chloride and cadmium chloride in male and female mice. *Mut. Res.*, 30, 365-374.
- SWAINE, D.J., (1955), The trace-element content of soils. *Bur. Soil Sci. Tech. Comm.*, 48, York, England : Herald Printing Works, 157.

SWAINE, D.J., (1962), The trace element content of fertilizers. Technical Communications, 52, Commonwealth Bureau of soils.

SWENERTON, H., SCHRADER, R. et HURLEY, L.H., (1969), Zinc deficient embryos : reduced thymidine incorporation. Science, 166, 1014-1015.

TAYLOR, D.M., (1961), Retention of zinc-65 in the bones of rats. Nature, 189, 923-993.

TEWORTE, W., (1973), Blei, Zink, Cadmium-Gewinnung, Einsatz und Emissionen. Staub-Reinh. Luft, 11, 422-431.

TEWORTE, W., (1975), Lead, Zinc, Cadmium-- Production, Use and Emissions. V.D.I.-Berichte, 203, 5-15.

TOLAN, A. et ELTON, G.A.H., (1972), Lead intake from food. International Symposium Environmental Health Aspects of Lead, Amsterdam, 77-84.

TOMASHEVSKI, J.F., (1966), Under what circumstances is inhalation of lead dangerous ? Symposium on Environmental lead contamination. Public Health Service, Publication, 1440, 39-49.

TOUGH, I.M., BUCKTON, K.E. et BAIKIE, A.G., (1960), X-ray-induced chromosome damage in man. Lancet, ii, 849-851.

TSUCHIYA, K., (1967), Proteinuria of workers exposed to cadmium fume. The relationship to concentration in the working environment. Arch. Environ. Health, 14, 875-880.

ULMER, D.D. et VALLEE, B.L., (1969), Effects of lead on biochemical systems, 7-27. In D.D. Hemphill, Ed. Trace Substances in Environmental Health. II. Columbia : University of Missouri Press.

USPHS, (1966), Air quality data, National Air Sampling Network 1964-1965. U.S. Department of Health, Education and Welfare, Public Health Service, Division of Air Pollution, Cincinnati, Ohio.

VALLEE, B.L., (1959), Biochemistry, Physiology and Pathology of zinc. *Physiol. Rev.*, 39, 443-490.

VALLEE, B.L., ADELSTEIN, S.J. et OLSON, J.A., (1955), Glutamic dehydrogenase of beef liver, a zinc metalloenzyme. *J. Amer. Chem. Soc.*, 77, 5196.

VALLEE, B.L. et GIBSON, J.G., (1948), The zinc content of normal human whole blood, plasma, leucocytes, and erythrocytes. *J. Biol. Chem.*, 176, 445-457.

VALLEE, B.L. et HOCH, F.L., (1955), Zinc, a component of yeast alcohol dehydrogenase. *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.*, 41, 327-338.

VALLEE, B.L. et NEURATH, H., (1954), Carboxypeptidase, a zinc metalloprotein. *J. Amer. Chem. Soc.*, 76, 5006-5007.

VALLEE, B.L. et ULMER, D.D., (1972), Biochemical effects of mercury, cadmium and lead. *Ann. Rev. Biochem.*, 41, 91-128.

VALLEE, B.L. et WACKER, W.E.C., (1956), Zinc, a component of rabbit muscle lactic dehydrogenase. *J. Amer. Chem. Soc.*, 78, 1771-1772.

VALLEE, B.L. et WACKER, W.E.C., (1970), Metalloproteins. In the *Proteins*. New York : Academic Press, Vol. 5, 1-192.

VARMA, M.M., JOSHI, S.R. et ADEYEMI, A.O., (1974), Mutagenicity and infertility following administration of lead sub-acetate to Swiss male mice. *Experientia*, 30, 486-487.

VENITT, S. et LEVY, L.S., (1974), Mutagenicity of chromates in bacteria and its relevance to chromate carcinogenesis. *Nature*, 250, 493-495.

VENS, M. et LAUWEREYS, R., (1972), Détermination simultanée du plomb et du cadmium dans le sang et l'urine par le couplage des techniques de chromatographie sur résine échangeuse d'ions et de spectrophotométrie d'absorption atomique. Arch. Mal. prof., 33, 97-105.

VON ROSEN, G., (1954), Breaking of chromosome by the action of elements of the periodical system and by some other principles. Hereditas, 40, 258-263.

VON ROSEN, G., (1957), Mutations induced by the action of metal ions in Pisum. Hereditas, 43, 644-664.

VOORS, A.W., SHUMAN, M.S. et GALLAGHER, N.P., (1973), In trace substances in environmental health. IV ed. D.D. Hemphill, 215-222. Columbia : University of Missouri Press.

WALD, N., KOIZUMI, A. et PAN, S., (1967), A pilot study of the relationship between chromosome aberrations and occupational external and internal radiation exposure, 183-193 in Human Radiation Cytogenetics. H.J. Evans, W.M. Court Brown, A.S. McLean, eds., North-Holland Publishing Co., Amsterdam.

WALDRON, H.A., (1966), The anaemia of lead poisoning : A review. Brit. J. Ind. Med., 23, 83-100.

WARREN, H.V. et DELAVAUULT, R.E., (1962), Lead in some food crops and trees. J. Sci. Food Agric., 13, 96-98.

WEBB, M., (1972a), Binding of cadmium ions by rat liver and kidney. Biochem. Pharmacol., 21, 2751-2765.

WEBB, M., (1972b), Protection by zinc against cadmium toxicity. Biochem. Pharmacol., 21, 2767-2771.

WEBB, M., (1972c), Biochemical effects of Cd²⁺-injury in the rat and mouse testis. J. Reprod. Fertil., 30, 83-98.

WEITZEL, G., STRECKER, F.J., ROESTER, U., FRETZDORFF, A.M. et BUDDECKE, E., (1953), Zinc and insulin in the pancreas of bone fish. Zink und Insulin im Pankreas von Knochenfischen. Happe-Seyler's Z. Physiol. Chemie, 295, 83-106.

WETHERILL, G.W., RABINOWITZ, M. et KOPPLE, J.D., (1974), Recent advances in the assessment of environmental pollutants. WHO-EPA-CEC Symposium, Paris, June.

WHO, (1971), European standards for drinking water. Geneva.

WHO-OMS, (1972), Evaluation de certains additifs alimentaires et des contaminants : mercure, plomb et cadmium. Série de rapports techniques, 505, Genève.

WHO, (1972), (Geneva), Health Hazards of the Human Environment, 210.

WILLOUGHBY, R.A., McDONALD, E. et McSHERRY, B.J., (1972), The interaction of toxic amounts of lead and zinc fed to young growing horses. Vet. Rec. Oct., 14, 382-383.

WILSON, D.O. et CLINE, J.F., (1966), Removal of plutonium-239, tungsten-185, and lead-210 from soils. Nature, 209, 941-942.

WINOGRADOW, A.P., (1954), Geochemie seltener und nur in Spuren vorhandener chemischer Elemente im Boden. Akademie-Verlag, Berlin.

WISNIEWSKA, KNUPL, J.M., JABCOMSKA, J. et MYELAK, Z., (1971), Binding of cadmium on metallothionein in man : a analysis of a fatal poisoning by cadmium jodide. Arch. Toxikol. 28, 46.

YAMAGAMI, A., KAWAHARA, H., IMANISHI, Y. et NISHIDA, T., (1971), Cytotoxic actions of mercuric chloride and cadmium chloride on the cell population. J. Dent. Res., 50, 1147.

YAMAGATA, N. et SHIGEMATSU, I., (1970), Cadmium pollution in perspective. Bull. Inst. Publ. Health, 19, 1-27.

YODER, J., WATSON, M. et BENSON, W.W., (1973), Lymphocyte chromosome analysis of agricultural workers during extensive occupational exposure to pesticides. Mut. Res., 21, 335-340.

YOSHIKAWA, H., (1970), Preventive effect of pretreatment with low dose of metals on the acute toxicity of metals in mice. Ind. Health, 8, 184-191.

YOSHIKAWA, H., (1973), Preventive effects of pretreatment with cadmium on acute cadmium poisoning in rats. Ind. Health, 11, 113-119.

ZASUKHINA, G.D., SINELSCHIKOVA, T.A., LVOVA, G.N. et KIRKOVA, Z.S., (1977), Molecular - Genetic effects of cadmium chloride. Mut. Res., 45, 169-174.

ZAROOGIAN, R.J., (1972), Cadmium uptake by marine organisms. Canada Fisheries Research Board. Ottawa Journal, 29, 1367-1369.

