



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ BADJI-MOKHTAR
-ANNABA-

جامعة باجي مختار - عنابة -

FACULTE DES SCIENCE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de **DOCTORAT** 3^{ème} cycle (LMD) en
Reproduction & Développement
Spécialité : Biologie Animale et Environnementale

Intitulé

**L'effet d'éthanol sur les paramètres hématologiques,
biochimiques et les paramètres de la reproduction chez le lapin
mâle *Oryctolagus Cuniculus*.**

Présentée Par : M^{lle}. Asma SAIHIA

Jury :

Président : M. Mohamed Salah BOULAKOUD.....Pr., Univ. Annaba
Directeur de la thèse : M. Kamel KHELILI.....Pr., Univ. Annaba
Examinatrice : M. Djahida MEHDI.....MC., Univ. Oum El Bouaghi
Examineur : M. Nacer BAAZIZ.....MCA, Univ. Constantine 1
Examineur : M. Lalaoui KORRICHI.....Pr., Univ. Constantine 1
Examineur : M. Mahfoud MESSARAH.....Pr, Univ. Annaba

Année universitaire

2013/2014

Remerciements

Je tiens à remercier en premier lieu ALLAH le tout puissant d'avoir éclairé mon chemin et d'avoir guidé mes pas, et qui sans lui nous ne somme rien.

Tout d'abord, mes sincères et profonds remerciements s'adressent à la personne qui m'a proposé le sujet de thèse et qui m'a encadré tout au long de ces années d'études : Pr. Khelili Kamel.

C'est un devoir d'exprimer un double remerciement à Pr. Boulaoud Mohamed Salah, responsable du laboratoire d'écophysiologie animale, le premier pour avoir bien voulu me faire l'honneur de présider le jury de ma thèse et le second pour ses précieux conseils au laboratoire ainsi que pour l'intérêt et le soutien chaleureux dont il a toujours fait preuve.

Je suis très reconnaissante à M. Djahida Mehdi, M. Nacer Baaziz, M. Lalaoui Korrichi, M. Mahfoud Messarah d'avoir accepté, sans me connaître, le rôle d'examineur et de m'honorer par leurs présences.

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail et ma profonde gratitude
à mes parents, mon mari, mes sœurs et quelques amies
que j'ai eu la chance d'avoir à mes côtés,
qui m'ont soutenu tout au long de ces années de
travail.*

Table des matières

Remerciement	
Dédicace	
Résumé (français)	
Résumé (arabe)	
Abstract	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1
Chapitre I : Etude bibliographique	
I – Généralité sur les alcools.....	6
I-1- définition	6
I-2- classification	7
I-3- Propriétés physiques et chimiques	8
I-4- Production	9
I-5- Toxicité de certains alcools	10
I-6- Risque pour l'environnement	13
II- L'éthanol	13
II-1- Identification de l'éthanol	13
II-2- Historique	15

II-3- Propriétés physico-chimiques	16
II-4- Utilisation	17
II-5- Production et synthèse	18
II-6- bioéthanol	19
II-7- La toxicocinétique de l'éthanol	21
II-7-1- Absorption.....	21
II-7-2- Distribution	22
II-7-3- Métabolisme.....	22
II-7-4- Élimination	28
II-8- Toxicité de l'éthanol	28
II-8-1- Toxicité aiguë	28
II-8-2- Toxicité chronique.....	30
II-8-3- La génotoxicité	31
II-8-4- effet cancérogène.....	32
II-8-5- maladies alcoolique de foie.....	33
II-8-6- Stress oxydant et l'éthanol.....	34
II-8-7- Effets de l'alcool sur le système nerveux	36
II-8-8- Effets de l'alcool sur le système cardiovasculaire.....	37
II-8-9- Le pouvoir mutagène de l'éthanol.....	38
II-8-10 effets d'éthanol sur la reproduction.....	38
a- Chez l'homme.....	39
b- Chez la femme.....	39

Chapitre II : Etude expérimentale

III-Matériels et méthodes	40
III-1-Matériel biologique.....	40
III-1-1-Classification d'animal	40
III-2-Matériel chimique.....	40
III-2-1-Métabolisme de l'éthanol.....	41
III-3- Protocole expérimental.....	42
III-3-1- Les paramètres indicateurs de la fertilité.....	43
III-3-1-1- La mobilité des spermatozoïdes.....	43
III-3-1-2- la vitesse des spermatozoïdes.....	43
III-3-1-3- La concentration des spermatozoïdes.....	44
III-3-1-4- La vitalité des spermatozoïdes.....	44
III-3-1-5- Les anomalies des spermatozoïdes	46
III-3-2 Le dosage hormonal (testostérone)	47
III-3-3- Le dosage des paramètres biochimiques	50
III-3-3-1 Dosage du glucose.....	50
III-3-3-2 Dosage des protéines totales	52
III-3-3-3 Dosage de l'albumine.....	53
III-3-3-4 Dosage des triglycérides	54
III-3-3-5 Dosage du cholestérol.....	56
III-3-3-6 Dosage de créatinine	58
III-3-3-7 Dosage de l'urée.....	59
III-3-3-8 Dosage de bilirubine totale	61

III-3-3-9 Dosage de l'aspartate aminotransferase (ASAT/TGO)	63
III-3-3-10 Dosage de l'alanine aminotransferase (ALAT/GPT)	64
III-3-4 Techniques histologiques	66
III-4- Étude statistique	71

Chapitre III : Résultats

IV- Résultats	72
IV- 1- Poids corporel.....	72
IV- 2- Poids absolu des organes.....	73
IV - 2-1- Poids des testicules	73
IV - 2-2- Poids d'épididyme.....	74
IV - 2-3- Poids du foie.....	75
IV - 2-4- Poids des reins.....	76
IV – 3- Paramètres indicateurs de la fertilité.....	77
IV – 3-1- Paramètres spermatiques.....	77
IV – 3-2- Taux de testostérone.....	81
IV - 4- Les paramètres hématologiques	82
IV - 4-1- Nombre des globules rouges.....	82
IV - 4-2- Nombre des globules blancs.....	83
IV - 4-3- Taux d'hémoglobine.....	84
IV - 4-4- Taux d'hématocrite.....	85
IV - 4-5- Taux des plaquettes.....	86
IV - 5- Paramètres biochimiques.....	87
IV- 5-1- Taux de TGO.....	87

IV - 5-2- Taux de TGP.....	88
IV - 5-3- Taux d'urée.....	89
IV - 5-4- Taux de créatinine.....	90
IV - 5-5- Taux du glucose.....	91
IV - 5-6- Taux des triglycérides.....	92
IV - 5-7- Taux du cholestérol.....	93
IV - 5-8- Taux de la bilirubine.....	94
IV - 5-9- Taux d'albumine.....	95
IV - 5-10- Taux des protéines totales.....	96
IV- 6- Etude histologique.....	97

Chapitre IV : Discussion

Discussion	101
Perspective et conclusion	109

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

ADH: alcool déshydrogénase

CYP 2E1 : Cytochrome P450 2E1

ALDH: Aldéhyde déshydrogénase

EDTA : Ethylène Diamine Tétra Acétique

ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay (dosage immuno-enzymatique sur support solide)

g: gramme

ml: millilitre

µm/sec : micromètre / seconde

ng/ml: nanogramme / millilitre

L: litre

TGO: Sérum Glutamooxaloacétate Transférase

TGP: Sérum Glutamopyruvate Transférase

STAR: steroidogenesis activator protein

Liste des figures et tableaux

N°	Tableau	page
01	les caractéristiques physiques de l'éthanol.	16
02	la concentration, la mobilité et la vitesse des spermatozoïdes des lapins de différents lots	78
N°	Les figures	Page
01	La molécule d'éthanol.	14
02	Métabolisme de l'éthanol.	41
03	Schéma du protocole expérimental	42
04	Présentation schématique des modifications morphologiques caractéristiques des spermatozoïdes exposés à un stress hypo-osmotique	46
05	Le poids corporel des lapins de différents lots	72
06	Le poids des testicules des lapins de différents lots	73
07	Le poids d'épididyme des lapins de différents lots	74
08	Le poids du foie des lapins de différents lots	75
09	Le poids des reins des lapins de différents lots	76
10	Taux des spermatozoïdes vivants des lapins de différents lots	78
11	Taux des modifications du flagelle des spermatozoïdes exposés au stress hypo-osmotique chez les lapins des différents lots.	79
12	Taux des anomalies des spermatozoïdes chez les lapins des différents lots	80
13	Taux de testostérone chez les lapins des différents lots	81
14	Le taux des globules rouges des lapins de différents lots	82
15	Le taux des globules blancs des lapins de différents lots.	83
16	Le taux d'hémoglobine des lapins de différents lots	84
17	Le taux d'hématocrite des lapins de différents lots	85
18	Le taux des plaquettes des lapins de différents lots	86
19	Le taux de TGO des lapins de différents lots	87
20	Le taux de TGP des lapins de différents lots	88

21	Le taux d'urée des lapins de différents lots	89
22	Le taux de créatinine des lapins de différents lots	90
23	Le taux du glucose des lapins de différents lots	91
24	Le taux des triglycérides des lapins de différents lots	92
25	Le taux du cholestérol des lapins de différents lots	93
26	Le taux de la bilirubine des lapins de différents lots	94
27	Le taux d'albumine des lapins de différents lots	95
28	Le taux des protéines totales des lapins de différents lots	96
29	Les modifications histologiques des testicules chez les lapins des différents groupes.	98
30	Les modifications histologiques d'épididyme chez les lapins des différents groupes.	100

Résumé

L'objectif de ce travail est d'évaluer chez le lapin mâle adulte *Oryctolagus cuniculus* l'effet de la consommation chronique d'éthanol sur la reproduction, quelques paramètres hématologiques et biochimiques. Les lapins ont été répartis en 4 lots de 7 animaux, qui ont reçu une administration d'éthanol par gavage aux doses respectives de 2 g/kg/j, 2.5 g/kg/j et 3g/kg/j pendant six semaines successives. Après sacrifice des animaux, certains organes sont prélevés et pesés (testicule, épидидyme, foie, rein), le sang est recueilli pour le dosage des paramètres hématologiques, biochimiques et hormonaux. L'étude histologique des testicules et d'épididyme sont évalués aussi. Les résultats obtenus montrent une diminution dans la mobilité, la vitesse, la vitalité et la concentration des spermatozoïdes, accompagnée d'une augmentation de leur nombre malformés chez les trois lots traités par rapport au lot témoin. Par ailleurs, le traitement à l'alcool a entraîné une diminution du poids des testicules, d'épididyme et des reins, ainsi qu'une augmentation dans le poids du foie.

Les résultats ont montrés aussi une diminution dans le taux de la testostérone, chez les groupes traités comparés au groupe témoin. Alors que le taux de TGO, TGP, urée, créatinine, albumine, le cholestérol, les triglycérides, glucose, protéines totales et bilirubine a augmenté. L'analyse des paramètres hématologiques montre une diminution du GR, Ht et Hb accompagnée d'une augmentation des plaquettes et GB.

L'évaluation histologique montre une déformation des tubes séminifères, ainsi qu'une diminution du nombre des spermatozoïdes dans la lumière des tubes épидидymaire des lapins traités avec de l'éthanol par rapport au groupe témoin.

Mots-clés :

Éthanol, testicule, spermatozoïde, foie, testostérone.

Abstract

The objective of this study was to evaluate in the rabbit adult male *Oryctolagus cuniculus* the effect of chronic ethanol consumption on reproduction, some haematological and biochemical parameters. The rabbits were divided into 4 groups of 7 animals that received ethanol administration by gavage at the respective doses of 2 g / kg / d, 2.5 g / kg / d and 3g/kg/d for six successive weeks. After sacrificing the animals, certain organs were removed and weighed (testes, epididymis, liver, kidney); the blood is collected for determination of hematologic, biochemical and hormonal parameters. The histological study of the testes and epididymis are also evaluated.

The results show a decrease in mobility, speed, vitality and sperm concentration, accompanied by an increase in malformed sperm in all three treated groups compared to the control. In addition, alcohol treatment resulted in a decrease in the weight of testes, epididymis and kidney and an increase in liver weight.

The results also showed a decrease in testosterone levels, in the treated groups compared to the control group. Whereas the rate of GOT, GPT, urea, creatinine, albumin, cholesterol, triglycerides, total protein, glucose and bilirubin is increased. The hematological analysis shows a decrease in GR, Hb and Ht accompanied by increased in platelet and GB. Histological evaluation showed a deformation of the seminiferous tubules and a decrease in the number of sperm in the light of the epididymal tubes of rabbits treated with ethanol compared to the control group.

Keywords:

Ethanol, testes, sperm, liver, testosterone.

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم تأثير الاستهلاك المزمن للثانول على التكاثر, بعض المؤشرات البيوكيميائية و الدموية عند أرانب ذكور بالغين *Oryctolagus csulucium*. و لذلك قسمت الأرانب إلى 4 مجموعات من 7 حيوانات لكل مجموعة, تلقت هذه الأرانب عن طريق الفم الجرعات التالية 2غ/كغ/يوم, 5. 2 غ/ كغ / يوم , 3غ/كغ/يوم لمدة 6 أسابيع متتالية. بعد تضحية الأرانب تم نزع بعض الأعضاء و وزنها (خصية, بربخ, كبد, كلية). كما تم أخذ عينة من الدم من اجل دراسة تأثير الكحول على بعض المؤشرات البيوكيميائية , الدموية و الهرمونية. كما تطرقنا أيضا إلى تقييم تأثير الايثانول على بعض الأنسجة (البربخ و الخصية).

أظهرت النتائج انخفاضاً في حركة, سرعة, حيوية و تركيز الحيوانات المنوية, مع زيادة في عدد الحيوانات المنوية النافذة. بالإضافة أدى العلاج بالكحول أيضاً إلى انخفاض في وزن الخصيتين والبربخ والكلية ترافقها زيادة في وزن الكبد.

أظهرت النتائج أيضاً انخفاض في مستوى هرمون تستوستيرون , في المجموعات المعالجة بالكحول مقارنة بالمجموعة الشاهدة. في حين أن نسبة كل من اليوريا , الكرياتينين, الألبومين, البيليروبين, الغلوكوز, البروتينات الكلية, الكوليسترول, ثلاثي الغليسريد, TGO و TGP قد ارتفعت.

من تحليل نتائج المؤشرات الدموية نلاحظ انخفاض في نسبة الكريات الدموية الحمراء, الهيموغلوبين و الهيماتوكريت مع ارتفاع في عدد الصفائح الدموية و الكريات الدموية البيضاء.

ظهر التأثير السمي للثانول أيضاً على مستوى الأنسجة , حيث لوحظ تشوه في الأنابيب المنوية و انخفاض في عدد الحيوانات المنوية في لمعة الانابيب البربخية عند الأرانب المعالجة بالثانول مقارنة بالشواهد.

كلمات مفتاحية :

ايثانول , خصية , نطفة , كبد , تستوستيرون.

Introduction

Les produits chimiques font partie intégrante de notre mode de vie moderne. Nous pouvons les trouver dans nos maisons, nos jardins, nos écoles, nos voitures, etc. Ainsi, tous les jours nous sommes exposés à un réel cocktail chimique. Bien que les produits chimiques facilitent notre vie quotidienne, certains ont un impact sur notre santé et engendrent des souffrances qui peuvent être évitées. Le nombre de ces substances chimiques est monté en flèche ces 50 dernières années. On les trouve notamment dans des substances telles que les aliments et les boissons, les médicaments, les produits cosmétiques, les articles de toilette et les produits d'entretien. Les impacts de cette myriade des substances chimiques sur notre corps sont désastreux. Toutefois, il y a de plus en plus d'études scientifiques qui prouvent que ces produits sont liés au développement de certains cancers, à la survenue de malformations congénitales, d'asthme, d'allergies, de déficience immunitaires et d'une diminution de la présence de spermatozoïdes dans le sperme. **(INRS, 2011)**

De nombreux éléments permettent d'affirmer que certaines substances chimiques ont des effets toxiques sur la reproduction humaine et le développement embryonnaire. **(Cordier *et al.*, 2003)**. Les solvants sont parmi ces produits qui présentent des risques pour la santé, et qui sont susceptibles d'agir directement sur la fertilité ou indirectement via les effets sur le développement de l'appareil reproducteur **(Becker *et al.*, 2009)**, ce qui est d'autant plus inquiétant qu'en 2003 14,7% de la population salariée était exposée à des solvants contre 12,3% en 1994 **(INRS, 2005)**; il n'est pas nécessaire de travailler dans une usine chimique pour être en contact avec des solvant toxiques, les professionnels de la peinture, de la plasturgie, de l'imprimerie, du nettoyage, de la blanchisserie, etc. subissent aussi leurs effets néfastes.

Généralement les solvants sont liquide et volatiles à la température ambiante ils possèdent la propriété de dissoudre, de diluer ou d'extraire d'autre produit sans altérer ou modifier chimiquement la substance dissoute et sans lui même se modifier. Les caractéristiques chimiques des solvants expliquent l'étendue de leur utilisation dans de nombreux secteurs d'activité. Ils sont utilisés comme dégraissants, diluants, dissolvants et détachants. Ainsi, de l'industrie des bâtiments aux métiers du livre en passant par l'agriculture, plusieurs secteurs d'activité consomment ces substances et certains métiers comme ceux de peintures, coiffeurs, imprimeurs, cordonniers, mécaniciens...sont particulièrement exposés.

Malgré les caractéristiques très variables d'un solvant à un autre en termes de toxicité, d'inflammabilité et d'écotoxicité, il faut savoir qu'aucun d'entre eux n'est inoffensif. Compte tenu de leur affinité pour les organes riches en graisses (système nerveux, foie, reins) et de leur volatilité, les solvants pénètrent très facilement dans l'organisme par voies cutané et respiratoire mais également digestive suite à une absorption accidentelle.

L'intoxication chronique ou aigue selon la durée et l'intensité d'exposition, peut aller de la simple allergie au cancer. Les affections communes à l'ensemble de ces substances sont les effets d'ébriété et narcotiques, les irritations... .

L'utilisation, l'élimination et les déversements accidentels des solvants participent aussi à la pollution de l'atmosphère, du sol et de l'eau. Par leur volatilité ils se retrouvent principalement dans l'atmosphère et contribuent à des phénomènes tels que la dégradation de la qualité de l'air respiré, l'effet de serre ou la destruction de la couche d'ozone.

Plus de 52% des solvants consommés sont des solvants oxygénés qui regroupe les alcools, les cétones, les esters, les éthers et les éthers de glycol. Utilisés comme diluants des encres d'imprimerie, des vernis, des peintures et des colles à moquette, comme excipients

pour les produits pharmaceutiques ou cosmétiques. Les alcools représentent 24% de la consommation totale des solvants (peinture, laque, vernis, colles...) (INRS, 2005), se sont des substances couramment utilisés aussi bien dans l'industrie que dans les foyers domestiques.

Ils peuvent être à l'origine d'intoxications aiguës accidentelles ou volontaires parfois gravissimes. A terme, l'exposition répétée par voie pulmonaire ou contact cutané peut être à l'origine d'effets toxiques systémiques variés. Au début des années 80, plusieurs publications font état de la toxicité à terme des alcools qui induisent tant chez l'animal que chez l'homme des effets testiculaires, tératogènes et hématologiques. Lorsqu'ils se trouvent à l'état de vapeurs, les alcools volatils pénètrent facilement dans l'organisme. Par contre ils ne semblent pas traverser facilement la peau, mais quelques exceptions (méthanol, isopropanol, n-butanol) incitent à une certaine prudence.

L'intoxication par ingestion n'est pas rare, certains alcools (méthanol, isopropanol) pouvant être utilisés comme substituts de l'éthanol dans des boissons alcoolisées. Sur un plan toxicologique très général, les alcools sont considérés comme des solvants dangereux.

Certains d'entre eux présentent cependant une toxicité systémique aiguë particulière : lésions du nerf optique avec le méthanol, atteinte rénale avec l'éthylène glycol. Les alcools sont surtout des toxiques du système nerveux qui entraînent des troubles neurosensoriels suivis qui peut évoluer parfois jusqu'au coma. En cas d'ingestion massive, on observe une acidose métabolique à l'origine de défaillances respiratoires et cardiaques. Ce sont aussi des irritants de la peau (dermatoses) et des muqueuses (yeux, voies respiratoires). Globalement la toxicité nerveuse des alcools croît avec l'augmentation de leur poids moléculaire. (Pilière et Conso, 1997)

Les alcools sont reprotoxique, l'éthanol consommé sous forme de boissons provoque une altération de la fertilité masculine (diminution de libido et de taux de testostérone) (Van Thiel

et al., 1978). De plus la fertilité des femmes est modifiée de fait d'anomalies de cycle menstruel. Des femmes ayant une dépendance à l'alcool sont connues pour donner naissance à des enfants porteurs de multiples anomalies, décrites sous le terme du syndrome d'alcoolisme fœtal (S.A.F.).

L'éthanol est l'un des alcools aliphatiques qui représente un danger pour l'harmonie du fonctionnement de nombreux organes. C'est un excellent solvant industriel (vernis, peinture, parfums, produits pharmaceutiques...) et il présente des usages multiples en laboratoire (milieux réactionnels, extractions, cristallisation, etc.).

L'intoxication par inhalation de vapeurs d'éthanol ou par absorption percutanée est possible, mais c'est l'absorption exagérée de boissons alcoolisées qui est la cause essentielle de la toxicité de ce produit. (**Lauwerys, 1990**)

La toxicité de l'éthanol sur la fonction de la reproduction peut s'exprimer au niveau des organes reproducteurs (en particulier sur les gonades), et le système endocrinien. La manifestation d'une telle toxicité peuvent inclure des effets délétères sur la maturation sexuelle, la production, la qualité et le transport des gamètes, le comportement sexuel, la gestation et sur toutes les autres fonctions dépendantes de l'intégrité du système reproducteur.

Pour cela nous avons étudié les effets nocifs de l'éthanol sur la reproduction masculine, les paramètres hématologiques et biochimiques chez les lapins mâle adultes *Oryctolagus Cuniculus* à travers l'appréciation des paramètres biologiques des spermatozoïdes (concentration, mobilité, vitesse, vitalité et anomalie), l'évaluation de l'effet de l'éthanol sur le poids de quelques organes, sur le poids corporel, sur le taux de testostérone, sur l'histologie des organes reproducteurs (testicule et épидидyme), ainsi que certains paramètres sanguines et biochimiques.

Le présent travail est divisé en 4 chapitres :

Après cette introduction le premier chapitre présente l'identification et les caractéristiques physico-chimiques de l'éthanol, sa toxicocénitique, ces effets sur l'ensemble du corps et sur la reproduction.

Le second est une étude expérimentale, dans laquelle nous présentons les matériels et les méthodes de travail.

Le troisième chapitre représente les résultats obtenus après l'exposition des lapins à l'éthanol sous forme d'histogrammes et de figures.

Dans le quatrième chapitre, nous essayons de discuter les résultats obtenus et les comparer avec les données disponibles au niveau international.

I – Généralité sur les alcools

I-1- Identification

En chimie, un alcool est un composé organique dans lequel le groupement hydroxyle (OH) est lié à un carbone d'atome, généralement relié au carbone ou à d'autres atomes d'hydrogène. Une classe importante sont les alcools acycliques simples, leurs formule générale est $C_n H_{2n+1} OH$. Parmi eux, l'éthanol ($C_2 H_5 OH$) est le type d'alcool dans les boissons alcoolisées, et dans le langage courant du mot alcool se réfère spécifiquement à l'éthanol.

Le mot alcool apparaît en anglais dans le 16^{ème} siècle, prêtées par l'intermédiaire français de médecine latino, finalement de la langue arabe (*al-Kuhl*, « *le khôl* », une poudre utilisée comme un eye-liner). Le nom arabe actuelle pour l'alcool est *al-kuḥūl*, réintroduit à partir de l'utilisation de l'ouest. L'alcool le plus couramment utilisé est l'éthanol, il a été produit et consommé par les humains depuis des millénaires. C'est un liquide clair inflammable qui bout à 78,4 ° C, il est utilisé comme solvant industriel, carburant d'automobile, et des matières premières dans l'industrie chimique.

L'alcool le plus simple est le méthanol, $CH_3 OH$, qui était autrefois obtenu par la distillation du bois et, par conséquent, est appelé «alcool de bois». C'est un liquide clair qui ressemble à l'éthanol dans l'odeur et les propriétés, avec un point d'ébullition légèrement plus faible (64,7 °C), et est principalement utilisé comme solvant, combustible et des matières premières. Contrairement à l'éthanol, le méthanol est extrêmement toxique: une gorgée (aussi peu que 10 ml) peut causer une cécité permanente par la destruction des nerfs optiques et 30 ml (une once liquide) est potentiellement mortelle. (Vale, 2007)

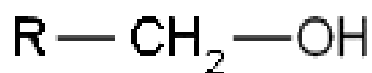
Deux autres alcools dont les utilisations sont relativement répandus (quoique pas autant que ceux de méthanol et éthanol) sont le propanol et le butanol . Comme l'éthanol, ils peuvent être produits par des procédés de fermentation. (Toutefois, l'agent de fermentation est une bactérie, *Clostridium acetobutylicum*). Ces alcools sont appelés alcools de fusel et ont tendance à avoir une saveur épicée ou poivrée. Ils sont considérés comme un défaut dans la plupart des styles de bières. Les alcools simples, en particulier, l'éthanol et le méthanol, peuvent être dénaturer, menant à leur utilisation comme agents antimicrobiens dans la médecine, pharmacie et l'industrie.

I-2- Classification

Les alcools sont classés en primaire, secondaire et tertiaire, basé sur le nombre d'atomes de carbone liés à l'atome de carbone qui porte le groupe hydroxyle.

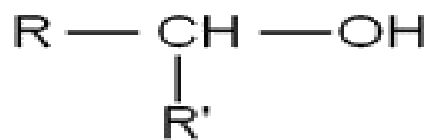
I-2-1- Les alcools primaires

Sont de formule générale $\mathbf{RCH_2OH}$ dont le carbone comportant le groupement hydroxyle est lié à au moins deux atomes d'hydrogène et un radical organique R (R est un radical organique variable, souvent un alkyle). L'éthanol et l'alcool n-propyle sont des alcools primaires



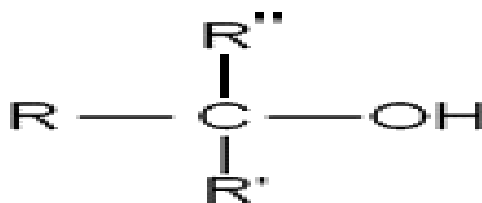
I-2-2- Les alcools secondaires

Sont de formule $\mathbf{RR'CHOH}$ dont le carbone comportant le groupement hydroxyle est lié à un atome d'hydrogène et deux radicaux organiques R et R'. L'alcool iso-propylique est une question secondaire.



I-2-3- Les alcools tertiaires

Sont de formule $\text{RR}'\text{R}''\text{COH}$ dont le carbone comportant le groupement hydroxyle est lié à trois radicaux organiques R, R' et R''. Les préfixes *sec* - (ou *s* -) et *tert* - (ou *T* -), de façon classique en italique, peut être utilisé avant le nom du groupe alkyle à distinguer les alcools secondaires et tertiaires.



I-3- Propriétés physiques et chimiques

Les alcools ont une odeur qui est souvent décrit comme «mordant» et comme «suspendue» dans les voies nasales. L'éthanol a une odeur qui peut être agréable, sucré pour les glycols, acre ou amère cas de propanol ou alcool furfurylique, ou encore piquante cas d'alcool isoamylique.

En général, les alcools sont solubles dans l'eau (le méthanol, l'éthanol et le propanol sont miscibles dans l'eau parce que le groupe hydroxyle emporte sur la chaîne carbonée courte). les alcools à cinq carbones ou plus (pentanol et supérieur) sont effectivement insoluble dans l'eau en raison de la dominance de la chaîne hydrocarbonée. Tous les alcools simples sont miscibles dans les solvants organiques.

En raison de la liaison hydrogène, les alcools ont tendance à avoir un points d'ébullition plus comparables aux hydrocarbures et aux éthers. Le point d'ébullition de l'éthanol est 78,4 ° C, comparativement à 69 ° C pour les hydrocarbures hexane (un constituant commun de l'essence), et 34,6 ° C pour l'éther di-éthylique.

Les alcools peuvent également subir l'oxydation pour donner les aldéhydes, cétones ou acides carboxyliques, ou ils peuvent être déshydraté pour alcènes. Ils peuvent réagir pour former des composés d'ester.

Ils sont inflammables ou facilement inflammables. Le point d'éclair pour les plus utilisés se situe entre 12 et 40°C. Leurs vapeurs peuvent former des mélanges explosifs avec l'air. Les diols (glycols) ne sont pas considérés comme inflammables. Leurs points d'éclair se situant à des températures supérieurs à 100°C.

Les alcools sont très volatiles, leur diffusion dans le milieu ambiant ou dans l'atmosphère est donc très importante. (INRS, 2009)

I-4- Production

Dans l'industrie, les alcools sont fabriqués de plusieurs façons:

- Par la fermentation à l'aide de glucose produit à partir de sucre de l'hydrolyse de l'amidon, en présence de levures et de température inférieure à 37 ° C pour produire l'éthanol.
- En directe hydratation à l'aide d'éthylène (hydratation d'éthylène) (Lodgson, 1994).

I-5- Toxicité de certains alcools

I-5-1-Toxicité de méthanol (CH₃OH)

Solvant industriel très apprécié des laques, vernis, celluloïdes et matières plastiques, très souvent utilisé en synthèse organique et pour la fabrication des liquides antigels, le méthanol est aussi utilisé couramment en laboratoire (cristallisation, chromatographie, etc.). En milieu professionnel, les voies d'absorption sont essentiellement respiratoires (58 % du méthanol inhalé sont absorbés), cutanée (équivalente ou supérieure à l'absorption pulmonaire) et accessoirement digestive. Après absorption, le méthanol diffuse rapidement et complètement dans l'eau de l'organisme. Cette forte affinité pour l'eau est responsable de sa lente élimination et aboutit à un phénomène cumulatif. Le méthanol est métabolisé en aldéhyde formique (HCHO) et en acide formique (HCOOH), tous deux responsables de son action toxique, notamment au niveau du tissu rétinien. Ces deux facteurs (lente élimination et métabolisme oxydatif toxifiant) font du méthanol, à dose égale, un produit plus dangereux pour l'homme que l'éthanol. En dehors de l'intoxication aiguë qui se produit essentiellement par ingestion et qui est très grave, il faut souligner qu'à long terme, l'exposition pulmonaire répétée à ce solvant se manifeste essentiellement par la conjonctivite, des troubles nerveux légers (céphalées, insomnies, etc.), une baisse de l'acuité visuelle (amaurose méthanoïque) aboutissant souvent à une cécité plus ou moins complète. Le pronostic de cette intoxication est grave car son évolution peut parfois être brutale et aboutir au coma. Le contact cutané répété avec le méthanol entraîne des signes d'irritation cutanée : dermatite, érythèmes). (Conso, 1997)

La surveillance en hygiène industrielle de l'exposition par voie pulmonaire au méthanol est réalisée grâce à des prélèvements d'ambiance ou individuels à hauteur des voies respiratoires

des salariés et vérifie que la valeur moyenne d'exposition (V. M. E.) calculée sur 8 heures de travail, ne dépasse pas 200 ppm (260 mg/m³).

I-5-2- Toxicité d'éthanol (C₂H₅OH)

Diffusant dans tout l'organisme, l'éthanol est oxydé à raison de 80 à 90 % au niveau du foie en aldéhyde acétique (acétaldéhyde) et en acide acétique ultérieurement oxydé en gaz carbonique et eau au niveau du cycle de Krebs. Environ 5 à 10 % de l'éthanol sont éliminés par l'air expiré, les urines et la sueur. L'exposition à des concentrations élevées de vapeur peut néanmoins entraîner une irritation des muqueuses des voies respiratoires et des yeux, des céphalées, des vertiges, un état d'ébriété et de somnolence. La V. M. E. est actuellement fixée à 500 ppm (960 mg/m³), ainsi que la dose sans effets toxique observable est 87mg/kg/j (INRS, 2011).

I-5-3- Toxicité d'isopropanol (C₃H₇OH)

Cet alcool est essentiellement utilisé comme solvant. Rapidement absorbé par les voies respiratoire et digestive, l'alcool isopropylique se distribue dans tout l'organisme avec une demi-vie sanguine variant de 2 à 6 heures. L'isopropanol est en partie éliminé sous forme inchangée par voie respiratoire et en partie métabolisé : il est essentiellement oxydé en acétone dont la demi- vie est beaucoup plus longue que celle de l'isopropanol. L'isopropanol est un produit irritant pour la peau et les muqueuses. A long terme sa cancérogénicité a été suspectée. En fait les données expérimentales montrant un excès de cancers des sinus maxillaires concernent les expositions aux huiles isopropyliques et chez l'homme, c'est le procédé de fabrication de l'isopropanol qui est considéré comme cancérogène, ce qui n'est pas le cas de l'utilisation professionnelle de l'isopropanol lui même (Conso, 1997). En France, la valeur limite d'exposition (V. L. E.) a été fixée à 400 ppm (980 mg/m³).

I-5-4- Toxicité de butanol et iso-butanol (C₄H₉OH)

Ces deux solvants sont facilement absorbés par voie pulmonaire (vapeurs) et par voie cutanée (contact direct). Le n-butanol est modérément irritant pour la peau mais peut entraîner après exposition pulmonaire, une irritation oculaire et nasale, des céphalées et des vertiges. Des études expérimentales ont démontré après expositions répétées, une atteinte hépatique et rénale. Chez l'homme cependant une surveillance biologique, hépatique, hématologique et rénale d'une population exposée professionnellement pendant 10 ans, à des concentrations pouvant atteindre 200 ppm, n'a rien permis de déceler. Par contre cette population a présenté une pathologie oculaire à type d'œdème cornéen et d'œdème conjonctival se traduisant par des brûlures oculaires. (Conso, 1997)

I-5-5- Toxicité des autres alcools

D'autres alcools sont sensiblement plus toxiques, en partie parce qu'ils prennent beaucoup plus d'être métabolisée et en partie parce que leur métabolisme produit des substances qui sont encore plus toxiques, tels que l'intoxication par l'éthylène glycol ou du di-éthylène glycol qu'est dus à leurs métabolites, qui sont produites par l'alcool déshydrogénase (Brent, 2009 ; Schep *et al.*, 2009). Certaines alcools de chaînes plus longues tels que le 2-méthyl-2-butanol ont des effets sédatifs forts, mais il ont aussi une toxicité plus élevée que l'éthanol (Bunc, 2006). Ces alcools à chaîne plus longue sont trouvés comme contaminants dans certaines boissons alcoolisées et sont connus comme des alcool de fusel (Woo, 2005 ; Lachenmeier *et al.*, 2008) et sont réputés pour causer de graves gueule de bois bien qu'il n'est pas clair si les alcools de fusel sont réellement responsables. (Hori *et al.*, 2003).

Beaucoup d'alcools à chaîne plus longue sont utilisés dans l'industrie comme solvants et sont parfois maltraités par les alcooliques , (Wiernikowski *et al.*, 1997; Mankowski *et al.*, 2000) conduisant à une gamme d'effets néfastes sur la santé. (Bogomolova, 2004)

I-6- Risque pour l'environnement

Tous les alcools font partie de C.O.V. (composés organiques volatils). Leur émission dans l'atmosphère contribue à augmenter la production d'ozone dans la troposphère (couche atmosphérique la plus proche du sol) par réaction photochimique, augmentant ainsi les risques pour les personnes asthmatiques ou souffrant d'insuffisance respiratoire.

Les alcools sont solubles dans l'eau et rapidement dégradables, leur rejet massif à l'égout peut cependant contribuer sensiblement à la détérioration de la faune et la flore peuplant les fleuves et les rivières. (INRS, 2009)

II- L'éthanol

II-1- Identification de l'éthanol

L'éthanol, aussi appelé alcool éthylique, l'alcool pur, l'alcool de grain, ou boire de l'alcool, est un liquide volatile , inflammable et incolore. Il s'agit d'une drogue psycho active et l'une des plus anciennes drogues récréatives . Mieux connu comme le type de l'alcool dans les boissons alcoolisées , il est également utilisé dans les thermomètres , en tant que solvant , et en tant que carburant .

L'éthanol est un alcool à chaîne linéaire, et sa formule moléculaire est C_2H_5OH . Sa formule empirique est C_2H_6O . Une notation alternative est CH_3-CH_2-OH , ce qui indique que le carbone d'un groupe méthyle (CH_3) est fixé sur le carbone d'un groupe méthylène (CH_2), qui est lié à l'oxygène d'un groupement hydroxyle ($-OH$). L'éthanol est souvent

abrégé en EtOH, en utilisant la notation de chimie organique de communes représentant le groupe éthyle (C_2H_5) avec ET.

La fermentation des sucres en éthanol est l'une des premières réactions organiques employées par l'humanité. Les effets enivrants de la consommation d'éthanol ont été connus depuis l'antiquité. Dans les temps modernes, l'éthanol destiné à un usage industriel est également produit à partir de l'éthylène. L'éthanol a l'utilisation généralisée comme solvant des substances destinées à un contact humain ou de consommation, y compris les parfums, arômes, colorants, et des médicaments.

En chimie, il est à la fois un élément essentiel de solvant et d'une matière première pour la synthèse d'autres produits. Il a une longue histoire en tant que combustible pour le chauffage et la lumière, et plus récemment en tant que carburant pour les moteurs à combustion interne .

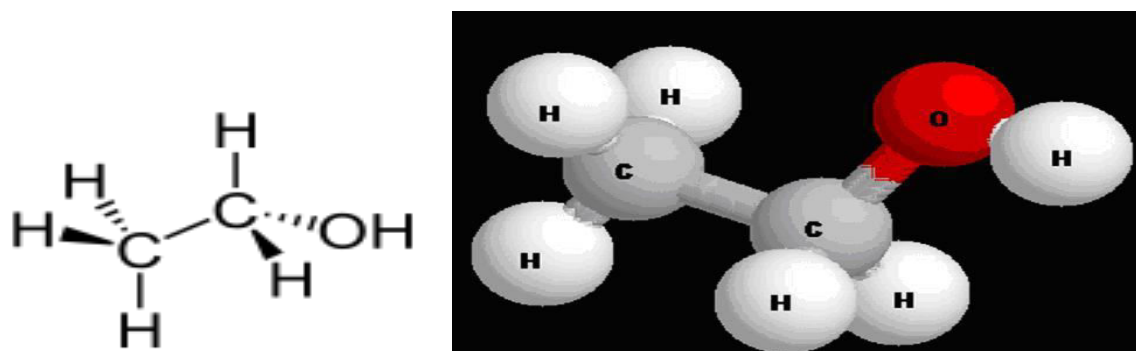


Figure 1 : la molécule d'éthanol.

II-2- Historique

L'éthanol a été utilisé par les humains depuis la préhistoire comme l'ingrédient enivrant de boissons alcoolisées. Les résidus secs sur la poterie de 9000 ans découverts en Chine impliquent que les personnes néolithiques ont consommé des boissons alcoolisées. (**Majerza et Natkaniec, 2006**)

Bien que la distillation était bien connu par les Grecs et les Arabes au début, la première production enregistrée de l'alcool de vin distillé a été par "School of Salerno alchimistes" au 12^{ème} siècle. Le premier à mentionner l'alcool absolu, a été Raymond Lulle .

En 1796, Johann Tobias Lowitz obtient l'éthanol pur en filtrant l'éthanol distillé à travers du charbon activé . Antoine Lavoisier décrit l'éthanol comme un composé de carbone, d'hydrogène et d'oxygène, et en 1808 Nicolas-Théodore de Saussure détermine la formule chimique de l'éthanol. (**Lodgson, 1994**)

Cinquante ans plus tard, Archibald Scott publié la formule développée de l'éthanol. Elle est l'une des premières formules de structure déterminée. (**Robert, 2004**)

L'éthanol a été d'abord préparé synthétiquement en 1826 grâce aux efforts indépendants de Henry Hennel en Grande-Bretagne et Sérullas en France.

En 1828, Michael Faraday prépare l'éthanol par hydratation de l'éthylène , un processus similaire à la synthèse de l'éthanol industriel actuel. (**Schep et al., 2009**)

L'éthanol a été utilisé comme combustible de lampe aux Etats-Unis dès 1840, mais une taxe prélevée sur l'alcool industriel au cours des guerre civile a fait cette utilisation non économique. La taxe a été abrogée en 1906 (**Brent, 2009**) d'origine Ford Model T automobiles a couru à l'éthanol jusqu'en 1908 (**Schep et al., 2009**). Avec l'avènement de

l'interdiction en 1920, les vendeurs de carburant d'éthanol ont été accusés d'être des alliés à bouilleurs (**Brent, 2009**), et l'éthanol a chuté en désuétude jusqu'à la fin du 20^{ème} siècle.

II-3- Propriétés physico-chimiques

II-3-1- Propriétés physiques

L'éthanol est un liquide mobile, incolore, volatile, d'odeur plutôt agréable, décelable dès 84 ppm. L'éthanol est miscible à l'eau, le mélange se faisant avec dégagement de la chaleur et contraction de liquide : un volume d'éthanol + un volume d'eau donnent 1,92 volume de mélange. Par contre il y a expansion de liquide lorsque l'éthanol est mélangé avec l'essence. L'éthanol est également miscible à la plupart des solvants usuels. C'est un bon solvant des graisses et il dissout de nombreuses matières plastiques (**INRS 2007**). Ces principales caractéristiques physiques sont les suivants :

Caractères physiques	
Masse molaire	46,07
Point de fusion	-114°C
Point d'ébullition	78-78,5 °C
Densité à 20 °C	0,789
Tension de vapeur	5,9 KPa à 20°C / 10KPa à 30°C / 29,3 KPa à 50°C.
Température d'auto-inflammation	423 °C à 425 °C
Limites d'explosivité dans l'air (% en volume)	Inférieur 3,3 % Supérieur 19 %

Tableau 1 : les caractéristiques physiques de l'éthanol.

L'éthanol peut être commercialisé sous forme anhydre (éthanol à 100 % en volume appelé aussi alcool absolu), ou à différentes concentrations dans l'eau, principalement à 95%, et pour des usages antiseptiques à 70%.

Pour les usages autres qu'alimentaires, des dénaturants sont ajoutés. L'éthanol dénaturé que l'on trouve également dans le commerce sous le nom d'alcool à brûler, est de l'éthanol dans lequel on a dissous divers produits pour le rendre impropre à la consommation.

L'éthanol est un liquide très inflammable point d'éclair en coupelle fermée = 13°C dans les vapeurs peuvent former des mélanges explosifs. Les solutions aqueuses d'éthanol sont également inflammables : le point d'éclair d'une solution à 70% est de 21°C, celui d'une solution à 10% est de 49°C. (INRS 2007)

II-3-2- Propriétés chimiques

Dans les conditions normales l'éthanol est un produit stable. Il possède les propriétés générales des alcools primaires (réaction d'oxydation, déshydrogénation, déshydratation et estérification). Il peut réagir vivement avec les oxydants puissants : acide nitrique, acide perchlorique...) et d'une manière générale tous les composés chimiques ou minéraux riches en oxygène et instables. Une oxydation brutale (par exemple combustion) le transforme en dioxyde de carbone et en eau, l'oxydation ménagée conduit principalement à l'aldéhyde et acide acétique. (INRS 2007)

II-4- Utilisation

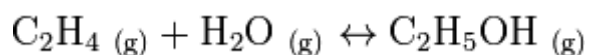
-C'est un solvant utilisé dans l'industrie des peintures, vernis, encres, matières plastiques, adhésives, explosives, parfums, cosmétiques...

- Matière primaire pour la production de nombreux composés : acide acétique, acrylate d'éthyle, acétate d'éthyle, éthers de glycol, éthylamine, éthylène, éthers oxydes...
- Constituant de carburants : le « bioéthanol », éthanol obtenu à partir de matière première végétales, peut être utilisé seul ou avec de l'essence; les mélanges essence-éthanol renferment 5 à 95 % de bioéthanol selon les pays.
- Désinfectant, biocide.
- Composant de boissons alcoolisées.
- Intermédiaire en synthèse organique, notamment pour la fabrication des produits pharmaceutiques.
- L'éthanol absolu est parfois injecté dans des tumeurs afin de provoquer leur nécrose.
- L'éthanol est aussi utilisé comme antidote dans le cas d'intoxication au méthanol ou à l'éthylène glycol (antigel), afin de saturer l'ADH (alcool déshydrogénase).

II-5- Production et synthèse

II-5-1- Par hydratation catalytique directe de l'éthylène

La synthèse de l'éthanol par hydratation de l'éthylène repose sur la réaction suivante :



Le produit final de l'hydratation de l'éthylène est un mélange contenant entre 10 % et 25 % d'éthanol en poids. Des distillations successives seront donc nécessaires pour obtenir un mélange plus concentré. Au final, les conditions optimales pour la réalisation de cette réaction d'hydratation dépendent grandement du catalyseur utilisé, des caractéristiques du réacteur et des qualités du produit de départ. La majorité des catalyseurs décrits dans la littérature

technique présentent un caractère acide. On citera notamment l'acide phosphorique et l'acide silicotungstique. Ces catalyseurs imprègnent généralement un support poreux.

II-5-2- Par hydratation indirecte de l'éthylène

La production d'éthanol par hydratation indirecte de l'éthylène fait intervenir un mécanisme réactionnel plus complexe avec deux grandes étapes : un ensemble de réactions d'estérification puis d'hydrolyse. Ce procédé consomme de grandes quantités d'acide sulfurique et nécessite en entrée un mélange gazeux de bonne qualité.

II-5-3- Production d'éthanol à partir de la biomasse

Dans ce cas, on parle de bioéthanol. La majorité du bioéthanol produit aujourd'hui provient du traitement des plantes sucrières (betterave, canne à sucre, ...) ou des céréales (maïs, blé, ...).

Dans le cas du raisin, des levures se retrouvent sur la praline de ce fruit. Ces levures vont alors transformer le sucre du raisin en alcool. Au cours de la glycolyse anaérobie, le glucose se transforme en pyruvate. Le pyruvate est ensuite transformé en éthanol par fermentation alcoolique. Ce processus nécessite au préalable la réduction du pyruvate en éthanal et la libération de dioxyde de carbone. L'éthanal est ensuite réduit en éthanol grâce à l'oxydation de NADH, H^+ en NAD^+ . La fermentation sert ainsi à régénérer le NAD^+ , indispensable au bon déroulement de la glycolyse.

II-6- Bioéthanol

Le terme bioéthanol est un amalgame entre le préfixe bio du grec *bios*, *vie*, *vivant* et du terme éthanol. Le préfixe bio indique que l'éthanol est produit à partir de matière organique

(biomasse) et n'a pas de lien avec le terme « bio » parfois utilisé pour désigner l'agriculture biologique. Le préfixe « bio » est donc contesté dans certains pays francophones. Il s'agit d'un vecteur énergétique issu de l'agriculture, ou des déchets de l'industrie forestière, et appartenant à la famille des énergies renouvelables.

Les végétaux contenant du saccharose (betterave, canne à sucre...) ou de l'amidon (blé, maïs...) peuvent être transformés pour donner du bioéthanol, obtenu par fermentation du sucre extrait de la plante sucrière ou par hydrolyse enzymatiques de l'amidon contenu dans les céréales. On parle généralement de filière « sucre » pour désigner cette filière de production du « bioéthanol ».

Cet éthanol d'origine végétale n'est rien d'autre que de l'alcool éthylique, le même que celui que l'on trouve dans toutes les boissons alcoolisées. Il peut être mélangé à l'essence en des proportions allant de 5 à 85 %.

La production de bioéthanol à partir de la biomasse se divise sommairement en trois étapes :

a- L'hydrolyse de la céréale

Contrairement aux plantes sucrières qui donnent du sucre directement, il est nécessaire d'hydrolyser l'amidon (polymère du glucose) contenu dans les céréales afin d'obtenir du glucose. Cette hydrolyse peut se faire par des enzymes (hydrolyse enzymatique) ou par de l'acide (hydrolyse acide, nécessite que le mélange soit porté à ébullition).

b- La fermentation du glucose

On utilise pour cette étape des levures que l'on insère dans un mélange de sucre et d'eau. La durée de fermentation varie mais tourne aux alentours de quelques semaines. La fermentation est due à l'enzyme des levures, la zymase, qui provoque la décomposition des

sucres naturels en éthanol et en dioxyde de carbone. A l'issue de cette étape on obtient un éthanol très dilué, inutilisable pour l'instant.

c- La distillation

Pour extraire l'éthanol du mélange d'éthanol et d'eau on peut procéder à une distillation fractionnée. Cette distillation s'appuie sur la température d'ébullition de l'éthanol 78,4°C, inférieure à celle de l'eau 100 °C. Le mélange appelé parfois alcoolat est porté à ébullition, et l'éthanol s'évapore avant que l'eau ne commence à bouillir. En pratique, une certaine proportion d'eau et de produits plus volatiles que l'éthanol entrent dans le liquide obtenu après la première distillation qu'on appelle parfois flegme, la flegmasse étant le résidu de cette distillation. D'autre part, de multiples distillations ne permettent pas d'obtenir un éthanol à plus de 96 % car il forme avec l'eau un azéotrope (**Claudio et al., 2009**). Pour obtenir de l'éthanol plus pur, il faut déshydrater l'azéotrope, par exemple en le distillant sur CaO (L'oxyde de calcium). Si le point azéotropique est dépassé, les distillations sont de nouveau opérationnelles.

D'autres filières existent cependant, notamment la production de bioéthanol (dit bioéthanol cellulosique) à partir de déchets végétaux (sciure de bois, paille de blé, emballages, ...). En effet ces produits contiennent de grandes quantités de cellulose, un autre polymère du glucose. Le problème réside dans l'hydrolyse de la cellulose, difficilement réalisée à ce jour.

II-7- La toxicocinétique de l'éthanol

II-7-1- Absorption

L'éthanol est rapidement absorbé par voie orale et respiratoire et peu par contact cutané. (**Jones et Jönsson, 1994**). L'inhalation de vapeurs de l'éthanol ne semble pas entraîner des effets graves pour la santé, tout comme le passage transcutané qui peut être considéré comme

négligeable .en revanche, les effets cancérogènes et reprotoxique de l'éthanol par ingestion ainsi que ses effets neurotoxique sont avérés (INRS.2009).

L'éthanol est une petite molécule qui se dissout aisément dans l'eau et peu dans le tissu adipeux du corps et se répartit facilement dans tous les organes. Elle se retrouve très rapidement dans la circulation sanguine et diffuse vers les organes les plus vascularisés (cerveau, poumons, foie).

II-7-2- Distribution

La distribution de l'éthanol est très rapide pour tous les organes très vascularisés (cerveau, poumon, foie) avec une demi-vie de distribution de 7 à 8 minutes (Jones *et al.*, 1990). Le volume de distribution de l'éthanol est superposable à celui de l'eau libre. Il est influencé par le rapport entre masse maigre et masse grasse de l'organisme, ce qui expliquerait que pour un poids équivalent, on note de grandes variations dues à l'âge, au sexe et à l'adiposité du sujet. À consommation égale d'alcool en une même période de temps, un homme aura un taux d'alcool sanguin moins élevé que la femme. Ceci s'explique par le fait que, généralement, ses masses corporelle et musculaire sont plus grandes que celles de la femme. Ainsi, l'alcool trouve davantage d'espace ou de volume de distribution dans le corps de l'homme (et ainsi demeure moins confiné au niveau sanguin). Il est possible d'estimer le volume de distribution de l'éthanol chez la femme à 0,6 l/kg et à 0,7 l/kg chez l'homme. (Goist et Sutker, 1985 ; Jones *et al.*, 1992)

II-7-3- Métabolisme de l'éthanol

Le métabolisme est essentiellement hépatique (90%). Toutefois, il existe une activité métabolique gastrique, intestinale et pour une part infime, rénale. (Lim *et al.*, 1993)

On distingue trois voies métaboliques pour l'éthanol : la voie principale liée à l'alcool déshydrogénase (ADH) représente environ 80 % des capacités métaboliques ; le système microsomial d'oxydation (MEOS) métabolise les 20 % restants ; enfin, une voie qualifiée d'accessoire est assurée par la catalase.

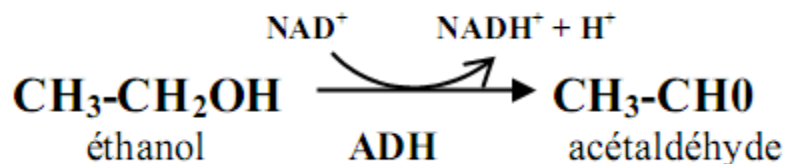
La majeure partie de l'éthanol est oxydée au niveau du foie. Son métabolisme fait intervenir deux oxydations, la première transforme l'éthanol en acétaldéhyde et la seconde transforme l'acétaldéhyde en acétate.

a- Oxydation de l'éthanol en acétaldéhyde

Cette première oxydation peut se réaliser selon plusieurs voies enzymatiques :

1- Alcool déshydrogénase (ADH)

La voie de l'ADH est prépondérante dans le métabolisme de l'éthanol. Cet enzyme cytosolique fonctionne avec le cofacteur NAD⁺ et catalyse la réaction :



L'ADH oxyde l'éthanol en acétaldéhyde au niveau des hépatocytes et, pour une part beaucoup plus modeste, au niveau de la muqueuse gastrique. (Ducluzeau et Meyran, 1993)

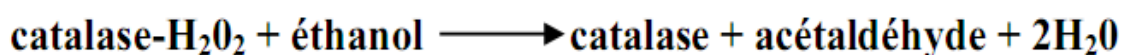
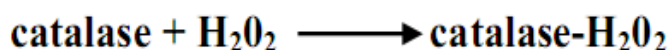
Chez l'homme, l'ADH hépatique est plutôt adaptée pour métaboliser des doses modérées d'alcool car l'activité de cet enzyme est diminuée chez les consommateurs excessifs et chroniques d'alcool (Thomas *et al.*, 1982).

2- Le système MEOS (microsomal ethanol oxydizing system)

Ce système, agit en présence de NADH et il est dépendant d'une forme particulière du cytochrome P450. Cette isoenzyme appelée, CYP2E1 qu'est une enzyme membranaire localisé principalement dans le réticulum endoplasmique, et qu'est exprimé en grande quantité dans les hépatocytes et en quantité jusqu'à 100 fois plus faible dans les tissus extra-hépatiques (poumons, œsophage, intestin, cerveau, lymphocytes, cœur) (**Lieber, 1999**). Elle accélère le métabolisme de l'éthanol mais aussi de nombreux xénobiotiques favorisant ainsi la production des radicaux libres ou de métabolites carcinogènes. Par ailleurs, des interactions compétitives sur le CYP2E1 entre médicaments et éthanol conduisent à ralentir le métabolisme de ces derniers et donc à augmenter leur biodisponibilité. Ce système fonctionne de façon plus importante chez l'éthylique chronique et pourrait ainsi compenser la plus faible activité de l'ADH chez ce type de patient. En ce qui concerne sa régulation, le CYP2E1 a pour caractéristique d'être induit après une administration aiguë et forte d'éthanol (**Petersen et al., 1990**) ou au cours d'une alcoolisation chronique (**Roberts et al., 1997**). D'autres isoenzymes du P450 peuvent également contribuer au métabolisme de l'éthanol comme les CYP1A2 et CYP3A4.

3- Catalase

La catalase a une fonction essentielle de détoxification de l' H_2O_2 . Elle peut également oxyder l'éthanol en acétaldéhyde selon la réaction suivante :



Cette voie d'oxydation est essentiellement localisée dans les peroxysomes de la plupart des tissus et dépend de la disponibilité en H_2O_2 laquelle est très limitée dans les conditions physiologiques habituelles.

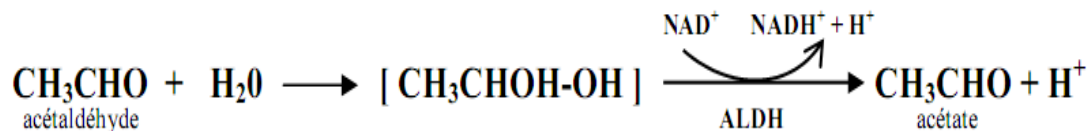
Comparé à la teneur en catalase du foie, le cœur peut contenir jusqu'à 150 fois moins de catalase. Toutefois, une consommation chronique et élevée d'éthanol est associée à une prolifération peroxisomale et à un doublement de l'expression de la catalase dans le myocarde. Malgré sa teneur faible en catalase, le cœur est donc capable de développer des voies de détoxification en cas d'alcoolisation.

b- Oxydation de l'acétaldéhyde en acétate

Cette seconde oxydation peut se réaliser selon plusieurs voies enzymatiques

1- Aldéhyde déshydrogénase (ALDH)

L'acétaldéhyde, produit hautement réactif et toxique pour la cellule, est à son tour oxydé en acétate grâce à l'intervention de l'ALDH. Cet enzyme, comme l'ADH, utilise le NAD^+ comme coenzyme et catalysent la réaction suivante :



L'ALDH appartient à une superfamille d'enzymes comprenant 16 gènes chez l'homme.

Ces enzymes ont une large spécificité pour les aldéhydes issus notamment de la peroxydation des lipides membranaires. A la différence de nombreuses déshydrogénases qui sont inhibées par le NADH pendant le métabolisme de l'éthanol, l'ALDH reste active malgré l'augmentation du rapport NADH/NAD^+ qui a lieu au cours du métabolisme de l'éthanol. Les deux isoenzymes les plus importants dans le métabolisme de l'éthanol sont l'ALDH1 et l'ALDH2.

Comparée à l'ALDH1 située dans le cytosol, l'ALDH2 est présente dans les mitochondries et a une plus forte affinité pour l'acétaldéhyde. L'ALDH2 est donc responsable de la majeure partie de l'oxydation de l'acétaldéhyde en acétate. Une autre ALDH mitochondriale, l'ALDH5 a également une faible affinité pour l'acétaldéhyde et semble jouer un rôle non négligeable dans le métabolisme de l'éthanol (Stewart *et al.*, 1995). Les ALDH 1, 2 et 5 sont exprimées massivement dans le foie. On retrouve également de l'ALDH abondamment dans le rein, les muscles, le cœur. Le placenta, le cerveau et le pancréas en contiennent un peu moins.

2- Cytochrome P450 (CYP2E1)

Cet enzyme est capable d'oxyder l'éthanol en acétaldéhyde et également d'oxyder l'acétaldéhyde en acétate, avec une affinité pour l'acétaldéhyde environ 1000 fois plus grande que pour l'éthanol.

3- Oxydases flaviniques

La xanthine oxydase et l'aldéhyde oxydase catalysent l'oxydation de l'acétaldéhyde en acétate par l'intermédiaire de l'oxygène moléculaire. Au cours de cette réaction, elles génèrent également des radicaux O_2^{\bullet} qui peuvent conduire eux mêmes à la génération d' $\bullet OH$ susceptibles d'initier la lipo-peroxydation. Ces deux enzymes interviennent de façon minoritaire dans l'oxydation de l'acétaldéhyde toutefois elles engendrent une production de radicaux agressifs qui n'est pas négligeable. Expérimentalement, Shaw et collaborateurs ont montré que l'administration de tungstate (inhibiteur de la xanthine oxydase et de l'aldéhyde oxydase) ou d'allopurinol (inhibiteur de la xanthine oxydase) ou de menadione (inhibiteur de l'aldéhyde oxydase) sur des hépatocytes de rat entraînent respectivement une réduction de 85-

90%, 35-50% et 100% de la lipoperoxydation induite par une alcoolisation chronique. Au travers de cette production de radicaux libres, l'aldéhyde oxydase pourrait donc jouer un rôle non négligeable dans les effets hépatotoxiques de l'alcool.

c- Destin de l'acétate

L'acétate peut-être transformé en acétyl-CoA dans les hépatocytes grâce à une thokinase cytosolique selon la réaction suivante:



L'acétyl-CoA est ensuite oxydé en CO₂ et H₂O au cours du cycle de Krebs. Cependant l'éthanol ne peut pas être totalement métabolisé au niveau du foie. En effet, 25% de l'acétate issu du métabolisme hépatique de l'éthanol est exporté vers les tissus extra-hépatiques pour y être dégradé.

- D'autres Voies

Le système nerveux central et le cœur ont des capacités oxydatives limitées pour métaboliser l'éthanol. Ces tissus vont donc métaboliser l'éthanol par des systèmes non oxydatifs comme des glutathion-S-transférases qui utilisent l'éthanol pour former des esters éthyliques d'acides gras. Bien que minoritaire, cette voie métabolique semble contribuer aux effets cytotoxiques de l'alcool sur ces tissus. Dans le cœur, l'alcoolisation chronique entraîne une hyperproduction d'esters éthyliques d'acides gras. Ces molécules sont non chargées et se lient préférentiellement à des structures hydrophobes comme les membranes mitochondriales. L'accumulation d'esters éthyliques d'acides gras autour de la mitochondrie entraîne un dysfonctionnement de la fonction mitochondriale qui peut être à l'origine des effets cardio-toxiques de l'alcoolisation chronique.

II-7-4- Élimination

Dès que l'on commence à absorber de l'alcool, l'organisme commence à l'éliminer. Lors de la phase de consommation, l'apport d'alcool est plus grand que ce que peut éliminer le corps. Par conséquent, l'alcoolémie augmente. L'éthanol est éliminé pour près de 90 à 95 % par voie métabolique. Le reste est excrété sous forme inchangée par les poumons. **(Brown, 1985)**

Les reins excrètent l'éthanol à raison de 0,06 l/h, et la sueur à raison de 0,02 l/h pour un sujet d'un poids de 70 kg **(Brown, 1985)**. L'éthanol est également éliminé dans le lait maternel. **(Lands, 1998)**

II-8- Toxicité de l'éthanol

Les effets toxiques de l'alcool sont aujourd'hui bien connus. Le foie, le cerveau et le système nerveux, le cœur et les muscles peuvent être atteints. L'appareil digestif n'est pas épargné. Les muqueuses, l'estomac et l'intestin sont irrités avec des sensations de brûlures fréquentes.

II-8-1- Toxicité aigue

L'éthanol est irritant pour les yeux mais n'a pas d'effet irritant ou sensibilisant sur la peau. Quelle que soit la voie d'administration et l'espèce considérée, les symptômes observés sont très semblables: ataxie, prostration, somnolence, paralysie, dyspnée. La mort survient par défaillance respiratoire ou circulatoire après baisse progressive de tension artérielle. Dans le cas d'inhalation, on note en plus une irritation des muqueuses respiratoires. **(INRS, 2011)**

L'examen anatomopathologique révèle des lésions hépatiques: œdème des cellules périphériques des lobules, accumulation des lipides et notamment des triglycérides.

Localement, n'a pas d'effet irritant appréciable sur la peau de lapin, sauf si l'on prolonge le contact 24 heures sous pansement occlusif. Une faible irritation passagère est alors observée.

Sur l'œil de lapin, le produit utilisé pur provoque une irritation oculaire modérée qui se manifeste par une légère opacification de la cornée et une rougeur de la conjonctive modérée à sévère. Ces effets sont réversibles en moins de 14 jours. (INRS, 2011)

Les manifestations observées en cas d'intoxication aiguë par ingestion sont bien connues : elles sont essentiellement neuropsychiques, puis coma plus ou moins profond avec menace du pronostic vital par paralysie des centres respiratoires et ont pu être reliées de façon assez précise au taux d'alcoolémie. Des altérations neuropsychiques sont observables pour des concentrations d'éthanol dans le sang de 0,2 g/l : diminution du temps de réaction, de coordination motrice et troubles de jugement. (Pastino *et al.*, 1997)

Il convient toutefois de signaler que l'alcool industriel présente des dangers particuliers dus notamment aux additifs de dénaturation, et surtout à sa concentration, les produits à plus de 70% d'éthanol risquant d'entraîner des lésions gastriques sérieuses.

Les essais réalisés sur volontaires ont permis de préciser les niveaux d'action suivants :

-1380 ppm : après 30 minutes d'exposition, céphalée suivi d'un léger engourdissement ;

-3340 ppm pendant 100 minutes : sensation de chaud et froid, irritation nasale, céphalée engourdissement.

-5000 ppm : irritation immédiate des yeux et des voies aériennes supérieures (toux) disparaissant en 5 à 10 minutes, odeur presque intolérable initialement mais acclimatation rapide ; très vite, céphalée, tension intraoculaire, sensation de chaleur, après 1 heure, engourdissement marqué.

-9000 ppm, en plus des symptômes ci-dessus, fatigue et somnolence après 30 minutes.

-20000 ppm ; larmoiement permanent, toux irrépressible, suffocation, cette concentration n'est tolérable que pour de très courtes périodes.

Toutes ces effets sont transitoires et disparaissent très vite après la fin de la période d'exposition. En cas d'expositions répétées ou chez les sujets ingérant régulièrement de l'éthanol un certain degré de tolérance apparaît : pour une même concentration atmosphérique, les symptômes sont moins sévères et le temps nécessaire pour les faire apparaître est plus long.

La projection de liquide pur dans l'œil provoque immédiatement une douleur cuisante, un larmoiement, des lésions de l'épithélium cornéen, une hyperémie de la conjonctive, la sensation de corps étranger peut durer 1 jour ou 2 mais en général la cicatrisation est spontanée. **(Grant, 1986)**

II-8-2- Toxicité chronique

L'éthanol possède une toxicité par exposition répétée par voie orale et respiratoire, aucun effet systémique observé par voie cutanée.

Les effets chroniques de l'éthylisme par ingestion avec ses retentissements neuropsychiques (polynévrite, atrophie cérébelleuse, trouble de la mémoire), digestif (stéatose et cirrhose hépatique, gastrite chronique, pancréatite), cardiovasculaire (myocardiopathie, hypertension artérielle) et hématologiques. **(INRS, 2011)**

En milieu industriel, cet éthylisme chronique doit retenir l'attention, d'une part en raison de risques d'accidents liés aux troubles de vigilance et d'autre part en raison d'interactions possibles avec les effets toxiques d'autres produits chimiques (notamment avec les effets hépatotoxiques des solvants chlorés, interaction avec les amides, oximes, thiurames, et carbonates inhibiteurs d'aldéhyde déshydrogénase). **(Hills et venable, 1982)**

Dans le cas d'inhalations répétées de vapeur d'éthanol, des irritations des yeux et des voies aériennes supérieures, des céphalées, de la fatigue, une diminution des capacités de concentration et de vigilance ont été rapportées, mais en dépit de rares observations anciennes non confirmées, il n'est pas établi que cette inhalation chronique puisse avoir notamment au niveau de foie et de myocarde des répercussions semblables à celles d'ingestion excessives répétées. Toutefois une étude portant sur 1282 travailleurs de l'industrie de caoutchouc et de pneumatiques et comportant un suivi de 15 ans, a conclu à une association significative chez les sujets de plus de 50 ans entre exposition à l'éthanol et mortalité par cardiopathie ischémique (**wilcoshy et tyroler, 1983**). Chez ces sujets manipulant une vingtaine de solvants, on a également trouvés de l'exposition au disulfure de carbone et au phénol. Il semble actuellement qu'une consommation excessive d'éthanol soit un facteur favorisant de l'athérosclérose. (**Biyik et Ergene, 2007**)

Localement la répétition d'un contact cutané peut entraîner un érythème et un œdème particulièrement s'il existe une occlusion gênant l'évaporation du produit.

II-8-3- La génotoxicité

Les données suggèrent que l'éthanol provoque des lésions de l'ADN dans les cellules somatiques et germinales. In vitro, il augmente de la fréquence des changements des chromatides sœurs dans des cultures de cellules ovariennes de l'hamster ou de lymphocytes humains.

In vivo une augmentation des changements des chromatides sœurs est également retrouvé chez les rats et souris exposants par voie orale à des doses massives d'éthanol (> 7g /kg /j) pendant plusieurs semaines. Il détermine également des mutations létales dominantes chez le rat et la souris male par voie orale dès 1240 mg /kg/ j pendant 3 jours, et la formation des

micronoyaux dans les érythrocytes de la moelle osseuse chez la souris à partir de 620mg/kg par injection intra-péritonéale. (INRS, 2011)

II-8-4- Effet cancérigène

L'ingestion prolongée de l'éthanol (boissons alcoolisées) accroît la fréquence de certains cancers, chez la population générale, les sujets alcooliques et dans certains cas les employés de brasseries (production des boissons alcooliques). Il n'excite pas des données épidémiologiques évaluant le rôle possible de l'inhalation de vapeur d'éthanol dans la survenue de cancers.

Dans une évaluation récemment mise à jour, le CIRC a analysé ces données concernant l'association possible entre l'alcool et 27 types de cancers. Lorsque des effets significatifs sont notés, ils surviennent généralement pour une consommation quotidienne de 50 grammes d'alcool pur. On retrouve également cette augmentation de risque pour :

- Les tumeurs de tractus digestif supérieurs (bouche, pharynx, larynx, œsophage). Les effets sont nettement majorés par le tabagisme.
- Les tumeurs hépatiques, souvent en liaison avec des atteintes préalable du foie liés à l'alcool (cirrhose).
- Les tumeurs de seins qui peuvent être augmentée légèrement à partir de doses de 18 gramme par jour.
- Les tumeurs colorectales.

Pour d'autres sites, les résultats sont inconstants (reins, poumons et estomac). (CIRC, 1988)

II-8-5- Maladies alcoolique de foie

Les maladies hépatiques provoquées par une consommation excessive d'alcool comportent des atteintes de trois types :

- **Stéatose** : accumulation, à un degré varié, de triglycérides sous forme de macro-vésicules, préférentiellement dans les hépatocytes.
- **Hépatite alcoolique (HA)** : association de nécrose hépatocytaire, d'inflammation, et de fibrose initialement péri-sinusoïdale. L'hépatite alcoolique est habituellement qualifiée d'aiguë car le tableau clinique, au moment du diagnostic, correspond le plus souvent à une forme sévère, ictérique qui s'atténue avec le sevrage d'alcool et le traitement. (**INSERM, 1993**)
- **Cirrhose alcoolique (CA)** : nodules de régénération de petite taille (micronodules) ou les cellules hépatiques essaient de fonctionner mais y arrivent mal car la disposition des nodules (nouvelles cellules) n'est pas conforme à leurs fonctions.

Aux lésions histologiques de base, stéatose, nécrose, inflammation, fibrose, peuvent être associées d'autres lésions élémentaires : corps de Mallory (agrégats de filaments d'actine, fréquents au cours de l'HA) ; mitochondries géantes (volumineuses mitochondries visibles au microscope optique) ; fibrose périveinulaire (fibrose autour de la veine centrolobulaire) ; ballonnisation cellulaire (hépatocytes de grande taille, considérés comme en voie de destruction).

D'un point de vue clinique, la stéatose peut exister seule ou en association avec une HA ou une cirrhose. La cirrhose peut être associée à une HA, et les HA sévères sont habituellement observées chez les patients cirrhotiques. (**INSERM, 1993**).

Les femmes sont plus sensibles à l'hépatotoxicité de l'alcool que les hommes.

Elles développent une cirrhose pour une quantité d'alcool consommée (Mezey *et al.*, 1988) et une durée d'alcoolisation moindres ; leur risque relatif de cirrhose est multiplié par 2 (Corrao *et al.*, 1997) par rapport aux hommes.

Cette constatation est également faite chez les animaux (Iimuro *et al.*, 1997). Les mécanismes à l'origine de cette sensibilité accrue ne sont pas encore connus avec précision, bien que certaines différences liées au sexe aient été identifiées : moindre activité de l'alcool déshydrogénase gastrique chez la femme; augmentation du taux d'endotoxine d'origine intestinale après absorption d'alcool chez le rat femelle par rapport au rat mâle (Kono *et al.*, 2000).

II-8-6- Stress oxydant et l'éthanol

De nombreux arguments montrent que l'alcool est responsable au niveau hépatique d'un stress oxydant résultant d'une perturbation du rapport oxydants/antioxydants, le stress oxydant pouvant ainsi résulter d'une hyperproduction de radicaux libres ou d'une diminution de la défense antioxydante. Le stress oxydant est impliqué dans la physiopathologie de nombreuses maladies chez l'homme (cancers, maladies cardiovasculaires, maladies neuro-dégénératives...). (INSERM, 1993)

L'administration d'éthanol provoque une augmentation de la production hépatique des dérivés réduits de l'oxygène $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 et $\bullet OH$ au niveau de nombreux sites cellulaires, par différents systèmes enzymatiques (Nordmann *et al.*, 1992). Ces espèces sont encore appelées « dérivés réactifs de l'oxygène » (DRO). Leurs principaux sites de production au cours de l'alcoolisation sont représentés par les microsomes, les mitochondries et les cellules de Kupffer. Les systèmes impliqués comportent les chaînes respiratoires microsomales et mitochondriales, et la NADPH oxydase.

Lorsque l'équilibre oxydants/antioxydants est perturbé, il s'établit un stress oxydant. L'éventail des modifications qui peuvent survenir en réponse au stress oxydant est bien documenté et comprend, entre autres :

-L'augmentation de la lipoperoxydation

L'existence du stress oxydant, traduite notamment par une exacerbation de la lipoperoxydation. Les produits de la peroxydation sont des aldéhydes tels que le malondialdéhyde (MDA). (**Uchida, 2000**)

-L'oxydation des protéines

Les protéines sont également des cibles pour les radicaux libres (**Remmer et al., 1989**). **Dean et al., 1991** ont montré que les protéines pouvaient être attaquées par les radicaux libres même à des concentrations très élevées en antioxydants, conditions pour lesquelles le processus de lipoperoxydation est presque supprimé. De même, **Davies et Goldberg (1987)** ont montré que l'oxydation des protéines apparaissait de façon précoce par rapport à la lipoperoxydation. Un stress oxydant peut être à l'origine de l'oxydation de la chaîne latérale de certains acides aminés constitutifs des protéines. D'une manière générale, l'oxydation des protéines est mise en évidence par l'augmentation des groupements carbonyles (-CHO) et l'oxydation des groupements thiols. Si l'oxydation radicalaire touche des acides aminés localisés au site actif des enzymes, ceci peut entraîner leur inactivation.

Les protéines oxydées ou altérées peuvent subir un repliement anormal et former des agrégats protéiques cytosoliques. Néanmoins, les protéines chaperons facilitent le repliement des protéines et favorisent ainsi le maintien de leurs fonctions tout en évitant la formation d'agrégats entre les domaines hydrophobes. (**INSERM, 1993**)

-Altérations de l'ADN

La consommation chronique d'éthanol génère différentes classes de molécules (radicaux libres, produits de la lipoperoxydation et acétaldéhyde) également susceptibles de léser l'ADN. L'augmentation du flux de radicaux libres peut générer une variété de lésions de l'ADN incluant fragmentation de l'ADN, et diverses mutations. De plus, les produits de la lipoperoxydation réagissent avec l'ADN pour former divers types d'adduits tels que des éthénobases. (INSERM,1993)

II-8-7- Effets de l'alcool sur le système nerveux

La toxicité de l'alcool sur le système nerveux s'envisage à deux niveaux : il existe une toxicité aiguë, dans laquelle les effets persistent tant que l'alcoolémie reste élevée puis disparaissent ensuite. Ces effets peuvent avoir des conséquences graves à court terme (troubles du comportement, accidents, violences...) mais n'entraînent pas de séquelles. La toxicité chronique comprend les effets résultant d'une consommation prolongée d'alcool : persistant même après arrêt de cette consommation, ils sont susceptibles de laisser des traces définitives. Les sujets concernés et les conséquences de ces deux types de manifestations sont donc extrêmement différents. (INSERM,1993)

a- Toxicité aiguë

La consommation d'alcool détermine un état d'ivresse auquel beaucoup d'auteurs préfèrent le terme d'intoxication éthylique aiguë. Elle comporte deux ordres de symptômes : à faibles doses, l'alcool a un effet psychostimulant excitant et entraîne une désinhibition du comportement. À plus fortes doses, l'effet est sédatif. Les troubles de vigilance, à type de confusion, peuvent aller jusqu'au coma. Ils s'accompagnent d'un syndrome cérébelleux responsable de troubles de l'équilibre et de la parole. (INSERM,1993)

b-Toxicité chronique

Un certain nombre de troubles neurologiques qui apparaissent à l'occasion de consommations élevées d'alcool n'en sont que la conséquence indirecte. Ils méritent cependant d'être mentionnés en raison de leur gravité et de leur fréquence. D'autres désordres sont quant à eux plus spécifiques d'une alcoolisation chronique.

Il s'agit essentiellement de complications :

- **Vasculaires** : de type hémorragie cérébrale, dont la fréquence s'élève avec la consommation d'alcool en raison essentiellement de son effet hypertenseur ;
- **Traumatiques** : hématomes cérébraux et hémorragies méningées ;
- **Métaboliques** : une hyponatrémie responsable de confusion et de convulsions peut s'observer essentiellement lors de consommation massive de bière qui implique une absorption très importante de liquide (**Demanet et al., 1971**). Des hypoglycémies s'observent parfois lors de consommations d'alcool chez des personnes à jeun et particulièrement chez les enfants.
- **Mécaniques** : la compression prolongée d'un membre au cours d'un coma éthylique peut entraîner une ischémie des troncs nerveux.
- **Hépatiques** : la cirrhose hépatique peut se compliquer d'une encéphalopathie dont la physiopathologie complexe fait intervenir l'insuffisance hépatocellulaire et l'hypertension portale.

II-8-8- Effets de l'alcool sur le système cardiovasculaire

Les effets de l'alcool sur le système cardiovasculaire peuvent être explorés à travers l'étude de l'influence de la consommation d'alcool au niveau des principaux facteurs de

risque cardiovasculaire, ainsi que sur d'autres paramètres intervenant dans l'homéostasie vasculaire. Dans un second temps, la consommation d'alcool peut être mise en relation avec l'incidence des principales maladies cardiovasculaires : infarctus du myocarde, accident vasculaire cérébral, myocardiopathie, troubles du rythme cardiaque et artérite des membres inférieurs.

Un certain nombre de paramètres biologiques (hypertension artérielle, lipides et lipoprotéines, hémostase) possèdent une valeur prédictive dans l'évaluation du risque cardiovasculaire. Ils ont naturellement été mis en regard de la consommation d'alcool dans de nombreuses études. (INSERM, 1993).

II-8-9- Le pouvoir mutagène de l'éthanol

Plusieurs auteurs ont conclu que l'éthanol était mutagène après une activation métabolique et que ce potentiel génotoxique était lié à ses métabolites (acétaldéhyde, formation d'espèces réactive de l'oxygène). En effet, le pouvoir mutagène de l'éthanol a été mis en évidence *in vitro* après activation métabolique et dans certaines études *in vivo*. Leurs conséquences peuvent être soit des effets cancérogènes, soit des effets sur la reproduction ou le développement. Des dommages à l'ADN ont également été retrouvés chez des sujets consommant des quantités excessives de boissons alcoolisées.

II-8-10 effets d'éthanol sur la reproduction

L'Institut national de recherche et de sécurité (INRS) a déposé, en octobre 2006 une proposition de classification européenne harmonisée de l'éthanol en tant que substance toxique pour la reproduction.

a- Chez l'homme

Le système reproducteur mâle se compose de l'hypothalamus, l'hypophyse antérieure, et les testicules. L'alcool peut interférer avec le fonctionnement de chacun de ces composants, ce qui provoque l'infertilité ainsi que la réduction des caractères sexuels secondaires masculins. **(Emanuele, 2001)**

Dans les testicules, l'alcool peut affecter les cellules de Leydig, qui produisent et sécrètent la testostérone. De nombreuses études ont démontré que les résultats d'une forte consommation d'alcool est la diminution du niveau de testostérone sanguin.

L'alcool altère également la fonction des cellules de Sertoli qui jouent un rôle important dans la maturation des spermatozoïdes. Dans la glande pituitaire, l'alcool peut diminuer la production et la sécrétion de deux hormones qui sont en relation avec la fonction de la reproduction, l'hormone lutéinisante LH et l'hormone folliculo-stimulante FSH. **(Emanuele, 1998)**

b- Chez la femme

La consommation chronique d'alcool provoque beaucoup de troubles pour la reproduction féminine. Les femmes peuvent avoir des déséquilibres dans le système hormonal, ce qui affecte le cycle menstruel. Même à une consommation modérée d'alcool le système reproducteur peut être perturbé. Chez les animaux de laboratoire, l'alcool est connu pour diminuer les concentrations d'hormones stéroïdes, d'inhiber l'ovulation, et d'interférer avec le transport des spermatozoïdes dans la trompe de Fallope. **(Sharma et Chaudhury, 1970).**

III-Matériels et méthodes

III-1-Matériel biologique

Le travail est réalisé sur vingt huit lapins mâles adultes domestiques *Oryctolagus cuniculus*, âgés de 9 à 10 mois et pesés à leur arrivé 2400g \pm 100g. Les animaux sont placés dans des cages (50 x 60 x 53cm³), pendant une période d'acclimatation de deux semaines suivie d'une période de traitement de six semaines successives. L'élevage est réalisé dans l'animalerie du département de Biologie Animal de la faculté des Sciences d'Annaba, sous des conditions naturelles de température et d'humidité. Les lapins sont nourris trois fois par jour avec un mélange composé de salade, de carottes, de pain dur concassé. L'eau est fournie *ad libitum* dans des abreuvoirs et renouvelée chaque jour.

III-1-1-Classification d'animal

Règne: animal

Embranchement : vertébrés

Classe : mammifères

Super ordre : Glires

Ordre: Lagomorphe

Famille : Léporidés

Genre : *Oryctolacus*

Espèce : *Oryctolacus cuniculus*

III-2-Matériel chimique

Le produit utilisé dans cette expérimentation est l'éthanol qui fait partie des solvants oxygénés. Il est utilisé principalement comme solvant pour la fabrication de peinture, vernis, encre... . Il est également utilisé comme carburant et comme un intermédiaire de synthèse important dans l'industrie chimique.

III-2-1-Métabolisme de l'éthanol

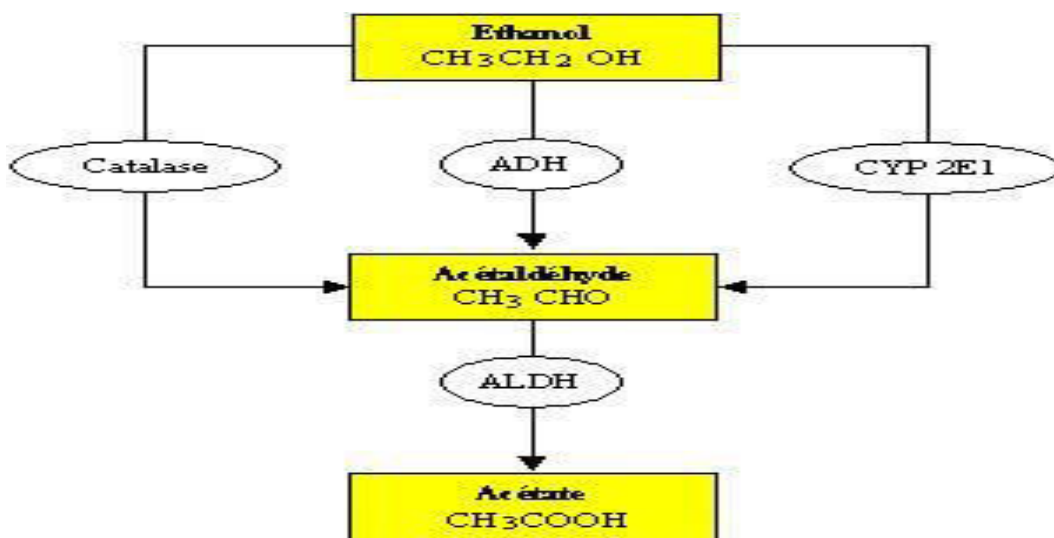


Figure 2 : métabolisme de l'éthanol.

III-3- Protocole expérimental

L'expérimentation consiste à administrer aux lapins trois doses croissantes de l'éthanol de 20%, 25% et 30%, obtenus à partir de la dilution de l'éthanol 96% selon le tableau de dilution de l'alcool de Gay Lussac (voire annexes). Les animaux ont été répartis en 4 groupes de 7 individus chacun :

- Groupe témoin.
- Groupe 1 : traité par 20% d'éthanol
- Groupe 2 : traité par 25% d'éthanol
- Groupe 3 : traité par 30% d'éthanol

Le volume 10 ml d'éthanol est administré par gavage une fois par jour pendant six semaines successives à l'aide d'une sonde gastrique.

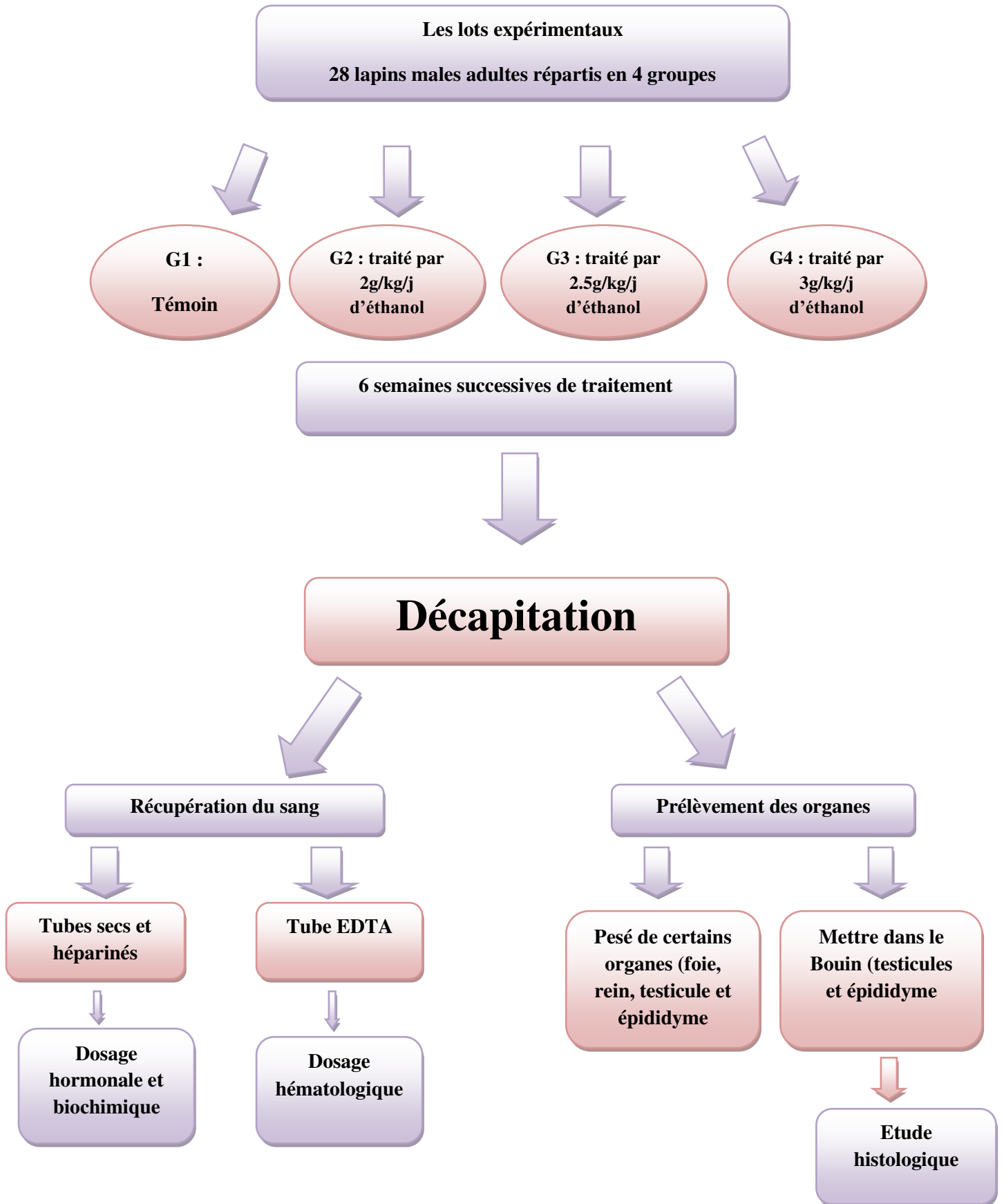


Figure 3 : schéma du protocole expérimental

III-3-1- Les paramètres indicateurs de la fertilité

Afin d'estimer l'effet de l'éthanol sur la fertilité des lapins, nous avons procédé au test du sperme selon la méthode de l'OMS (1993). Le sperme a été prélevé à partir d'une petite ouverture faite au niveau de la queue de l'épididyme. Le sperme est ensuite dilué dans le sérum physiologique (NaCl 0.9%).

III-3-1-1- La mobilité des spermatozoïdes

Une goutte du sperme dilué est déposée sur une lame, puis recouverte par une lamelle. La préparation est examinée sous microscope optique à un grossissement final x40. Le champ d'observation est divisé en 03 champs pour classer 100 spermatozoïdes, après on calcule le pourcentage des spermatozoïdes mobiles (OMS, 1993).

III-3-1-2- la vitesse des spermatozoïdes

Une goutte du sperme dilué est déposée sur une lame de Nageotte à l'aide d'une micropipette puis recouverte par une lamelle. Chaque lame de Nagoatte contient des lignes horizontales (0.5 µm entre deux lignes). Le principe de cette étude est de calculer le temps de déplacement d'un spermatozoïde entre 02 lignes à l'aide d'un chronomètre, l'examen peut cependant être fait dans des conditions à la température ambiante du laboratoire. La préparation est examinée à un grossissement final x40. (OMS, 1993).

La vitesse de spermatozoïdes est calculée par l'application du la relation suivante :

$$V = d / t$$

V : vitesse de spermatozoïdes (µm/sec).

-d : la distance entre 2 lignes (0.5 µm).

-t : le temps de déplacement (sec).

-on calcule la vitesse de 10 spermatozoïdes, puis on calcule la vitesse moyenne.

III-3-1-3- La concentration des spermatozoïdes

La concentration des spermatozoïdes est mesurée en utilisant un hémocytomètre (cellule de Malassez). Une goutte est introduite dans la cellule de Malassez puis recouverte par une lamelle. Cette étude repose sur le comptage des spermatozoïdes dans 05 cellules en grossissement x40 (OMS, 1993).

La concentration des spermatozoïdes est calculée par la méthode suivante :

$$\text{Concentration (Spz. } 10^6/\text{ml)} = D \times V \times n / N$$

-**D** : coefficient de dilution (50).

-**V** : volume de la cellule de Malassez.

-**n** : le nombre de spermatozoïdes comptés dans 05 champs.

-**N** : le nombre de petits carrés de la lame.

III-3-1-4- La vitalité de spermatozoïdes

a- La coloration vitale

Cette étude utilise une technique de coloration qui permet de donnée de bons résultats sur la vitalité des spermatozoïdes, elle est basée sur le principe que les cellules mortes ayant des membranes plasmiques lésées laissent pénétrer certains colorants.

Le réactif utilisé : Eosine à 1%.

-Méthode

-on mélange une goutte du sperme dilué avec une goutte de solution d'éosine à 1% sur une lame puis on recouvre la préparation avec une lamelle.

-Après une à deux minutes, on observe la préparation au grossissement final (x40).

-la vitalité est déterminée par la numération des spermatozoïdes colorés et incolores dans 3 champs d'observation, puis on calcule le pourcentage de chaque catégorie (spermatozoïdes colorés et incolores) (OMS, 1993).

b-Test de gonflement hypo-osmotique (HOS-TEST):

Ce test est basé sur le fait que la membrane de spermatozoïde intacte est semi perméable. Ceci a pour conséquence que si le spermatozoïde est placé en milieu hypo-osmotique, il se produit un influx d'eau dans la cellule qui provoque une augmentation de son volume (spermatozoïde gonflé) (Drevius et Eriksson, 1966). Introduit par Jeyndran *et al.*, 1984 comme test clinique, le HOS-TEST ne devrait pas être utilisé comme un test d'évaluation fonctionnelle des spermatozoïdes mais plutôt comme un autre test de vitalité. Il apporte des informations supplémentaires sur l'intégrité et la fonctionnalité de la membrane plasmique au niveau du flagelle. .

-Solution utilisée :

-on dissout 0,367g de citrate de sodium ($\text{Na}_3 \text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7, 2\text{H}_2\text{O}$) et 0.675g de fructose dans 50ml d'eau distillée (conserver à -20°C).

-Après décongélation, on mélange la solution avant usage.

-Méthode :

-pendant 5 minutes environ, on réchauffe à 37°C , 1 ml de la solution est placé dans un tube Eppenderf fermé.

-on ajoute 0.1 ml de sperme dilué et on mélange doucement à l'aide d'une pipette.

-on laisse incuber à 37°C pendant 30 minutes.

- on observe les spermatozoïdes sous microscope à un grossissement (x40).

-les spermatozoïdes gonflés sont ceux qui présentent des modifications du flagelle.

-on calcule le pourcentage des spermatozoïdes présentant des modifications du flagelle sur un total de 100 spermatozoïdes comptés (OMS, 1993)

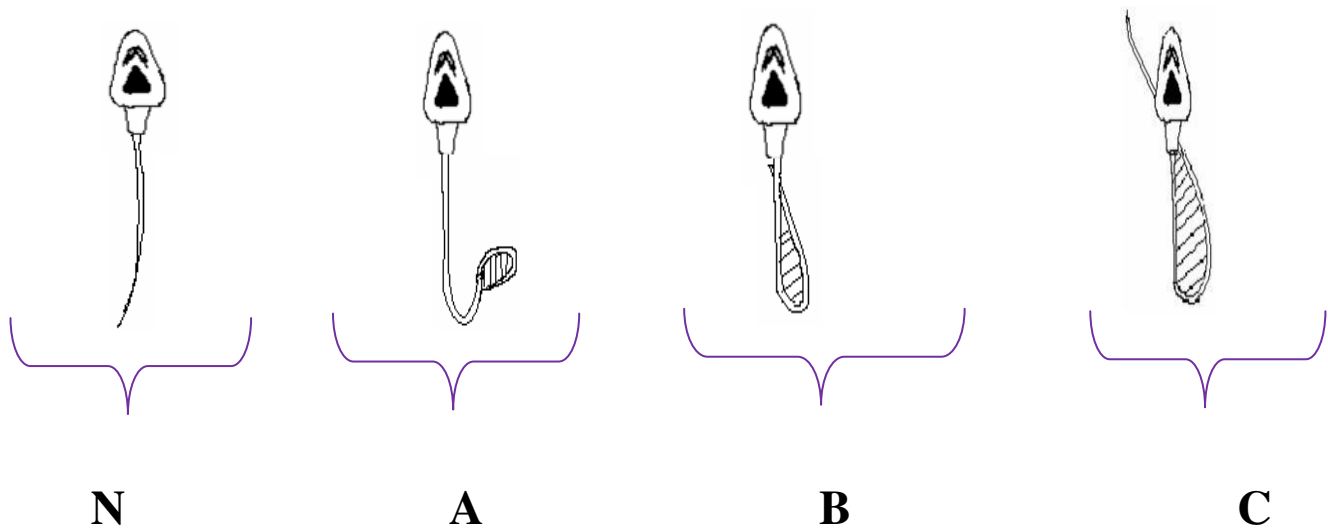


Figure 4: présentation schématique des modifications morphologiques caractéristiques des spermatozoïdes exposés à un stress hypo-osmotique.

A : modification faible du flagelle.

B : modification importante du flagelle.

C : modification très importante du flagelle.

N : spermatozoïde normal

III-3-1-5- Les anomalies de spermatozoïdes

Une recherche des anomalies morphologiques de la pièce intermédiaire, la tête et le flagelle a été effectuée en utilisant la coloration de Papanicolaou.

La coloration de Papanicolaou est la méthode la plus utilisée dans les laboratoires d'andrologie. Elle colore l'acrosome, la pièce intermédiaire et le flagelle.

Cette méthode aboutit à la coloration de l'acrosome en bleu clair, de la tête en bleu foncé, de la pièce intermédiaire en rouge, et du flagelle en jaune, tandis que le cytoplasme prend une couleur verte. (OMS, 1993)

III-3-2 Le dosage hormonal (testostérone): (Litwak, 1992) selon la fiche technique VIDAS.

-Principe :

Le test immuno-enzymatique sur phase solide (ELISA) est basé sur le principe de compétition. La quantité inconnue d'antigènes présents dans l'échantillon et une quantité fixe d'antigènes conjugués à une enzyme entrent en compétition pour les sites de fixation des anticorps coatés dans les puits. Après incubation, les puits sont lavés pour arrêter la réaction de compétition. L'intensité de la couleur développée suivant la réaction substrat est inversement proportionnelle à la quantité d'antigène présente dans l'échantillon. Les résultats des échantillons peuvent être déterminés directement à partir de courbe étalon.

-Matériel fourni :

Quantité	Symbole	Composant
1 x 12 x 8	MTP	Microplaque Barrettes sécables. Recouvert de anticorps de souris anti-testostérone (monoclonal).
1 x 25 ml	ENZCONJ	Conjugué Enzymatique Prêt(e) à l'emploi. Contient: Testostérone conjuguée à HRP, stabilisateurs.

1 x 7 x 1 ml	CAL A - G	Étalon A-G 0; 0.2; 0.5; 1.0; 2.0; 6.0; 16 ng/mL Prêt(e) à l'emploi. Contient: Testostérone, Sérum humain, stabilisateurs.
2 x 1 ml	CONTROL 1 + 2	Contrôle 1 + 2 Prêt(e) à l'emploi. Contient: Testostérone, Sérum humain, stabilisateurs.
1 x 12 ml	TMB SUBS	Solution Substrat TMB Prêt(e) à l'emploi. Contient: TMB, Tampon, stabilisateurs.
1 x 12 ml	TMB STOP	Solution d'Arrêt TMB Prêt(e) à l'emploi. 1 M H ₂ SO ₄ .
1 x 100 ml	WASHBUF CONC	Tampon de Lavage Concentré (10x)
2 x	FOIL	Feuille adhésive

-Matériel nécessite mais non fourni :

1. Pipettes (Multipette Eppendorf ou matériel similaire, CV < 3%) Volumes: 25; 100; 200 μ L)
2. Vortex.
3. Micropipette à 8-canaux avec réservoirs pour réactifs.
4. Bouteille pour lavage, système automatique ou semi-automatique pour le lavage de microplaque.
5. Lecteur de microplaque capable de lire l'absorbance à 450 nm (longueur d'onde de référence 600-650 nm).
6. Eau distillée ou déionisée.

7. Papier absorbant, embouts de pipette et chronomètre

-procédure du test :

1	Pipeter 25 μ L de chaque Étalon, Contrôle et échantillon dans les puits respectifs de la Microplaque.
2	Pipeter 200 μ L de Conjugué Enzymatique dans chaque puits.
3	Couvrir la plaque avec une feuille adhésive. Bien mélanger pendant 10 secondes.
4	Incuber 60 min à TA (18-25°C).
5	Retirer la feuille adhésive. Jeter la solution d'incubation. Laver la plaque 3 x avec 300 μ L de Tampon de Lavage dilué. Égoutter l'excès de solution en frappant la plaque retournée sur du papier absorbant.
6	Pipeter 100 μ L de Solution Substrat TMB dans chaque puits.
7	Incuber 15 min à TA (18-25°C).
8	Arrêter la réaction substrat en ajoutant 100 μ L de Solution d'Arrêt TMB dans chaque puits. Mélanger rapidement le contenu en agitant la plaque. La couleur vire du bleu au jaune.
9	Mesurer la densité optique avec un photomètre à 450 nm (longueur d'onde de référence: 600-650 nm) dans les 10 min suivant l'ajout de la Solution d'Arrêt.

-Calcule des résultats :

Les densités optiques (DO) des étalons (axe y, linéaire) sont reportées en fonction de leurs concentrations (axe x, logarithmique) soit sur papier graphique semi-logarithmique soit en utilisant une méthode automatisée. Une bonne analyse est obtenue avec les méthodes cubic spline, Logistics 4 Paramètres ou Logit-Log. Pour le calcul de la courbe étalon, appliquer chaque signal des étalons (une valeur apparemment fautive d'un double dosage peut ne pas être prise en compte et peut être remplacée par une valeur plus plausible). La concentration des échantillons peut être lue à partir de courbe étalon. Les échantillons

montrant une concentration supérieure à celle de l'étalon le plus concentré doivent être dilués de la façon décrite dans les préparations préalable au test et testés de nouveau.

-Les résultats des échantillons ayant été pré-dilués doivent être multipliés par le facteur de dilution appliqué.

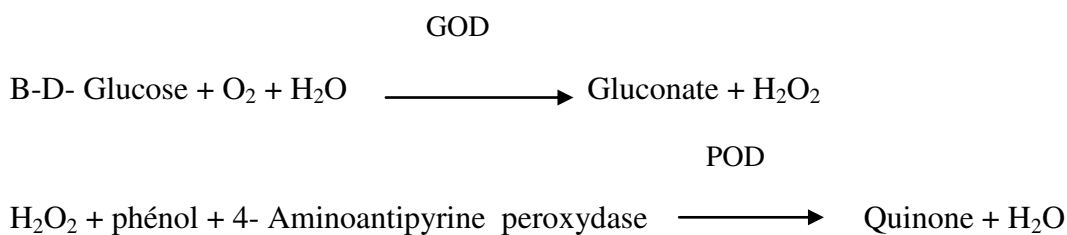
Conversion: Testostérone (ng/ml) x 3.47 = nmol/L.

III-3-3- Le dosage des paramètres biochimiques :

III-3-3-1 Dosage du glucose: (Kaplan, 1984) selon la fiche technique (Spinreact).

-Principe :

Le glucose subit des réactions couplées décrites ci-dessous pour donner un complexe coloré, qui peut être mesuré à la spectrométrie.



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du glucose dans l'échantillon.

-Échantillon: Sérum

-Réactifs utilisés :

<i>Les réactifs</i>	<i>Composition</i>	<i>concentration</i>
R1 tampon	Tris pH 7.4 Phénol	92 m mol/l 0.3 m mol/l
R2 enzymes	Glucose oxydase (GOD) Peroxydase (POD) 4- Aminophenazone (4-AP)	15000 U/l 1000 U/l 0.6 m mol/l
Glucose cal	Étalon de glucose aqueux primaire	100 mg/dl

Préparation du réactif de travail (RT) :

- ✓ Dissoudre le contenu de R₂ dans la fiole de R₁.
- ✓ Mélanger bien doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est stable 4 mois à 2-8 C°, ou 40 jours à 15-25 C°.

Mode opératoire :

	<i>Blanc</i>	<i>Étalon</i>	<i>Échantillon</i>
RT (ml)	1.0	1.0	1.0
Étalon (µl)	...	1.0	...
Échantillon (µl)	1.0

-Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37° C

-Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 500 nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 30 min.

Calcule : la concentration du glucose dans l'échantillon est calculée par la formule suivante :

$$\text{Glucose (mg/dl)} = \frac{\text{(A) échantillon}}{\text{(A) étalon}} \times 100$$

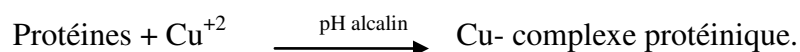
-La concentration de l'étalon = 100 mg/dl

-Facture de conversion : mg/dl x 0.055 = m mol/l

III-3-3-2 Dosage des protéines totales : (Burtis *et al.*, 1999) Selon la fiche technique Spinreact.

-Principe :

Les protéines de sérum forment dans un milieu alcalin avec les ions de cuivre, un complexe coloré en bleu, L'intensité de couleur violette est proportionnelle à la quantité des protéines présentées dans l'échantillon.



-Échantillon : sérum

-Réactifs utilisés :

Les réactifs	Composition	concentration
Réactif de Biuret	Sodium potassium tartrate	15 mol/l
	Sodium iodique	100 mol/l
	Potassium iodique	5 m mol/l
	Cuivre de sulfate	19 m mol/l
Réactif Étalon	Sérum bovine albumine	7 g/dl

-Mode opératoire :

	Blanc	Étalon	Échantillon
R (ml)	1.0	1.0	1.0
Étalon (µl)	...	25	...
Échantillon (µl)	25

-Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37°C, ou 10 min à la température de 25°C°.

-Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 540 nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 30 min.

Calcule :

$$\text{Concentration des protéines (g/dl)} = \frac{\text{(A) échantillon}}{\text{(A) étalon}} \times 7$$

La concentration de l'étalon = 7 (g/dl)

III-3-3-3 Dosage de l'albumine: (Drupt, 1974) selon la fiche technique Elitech.

-Principe :

A pH 4.20, le vert de bromocrésol se fixe sélectivement sur l'albumine en donnant une coloration bleue.



-Échantillon : sérum

-Réactifs utilisés :

Les réactifs	Composition	concentration
Réactif	Tampon succinate, pH 4.20 Vert de bromocrésol Brij 35	87 m mol/l 0.2 m mol/l 7.35 m mol/l
Étalon	Albumine bovine	5 g/dl

Mode opératoire :

	Blanc	Étalon	Échantillon
Réactif (ml)	310	310	310
Eau distillée (µl)	2
standard	...	2	...
Échantillon (µl)	2

Mélanger et lire l'absorbance (A) après 25 secondes d'incubation, à 660 nm

-Calcule :

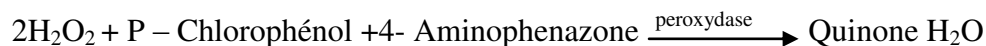
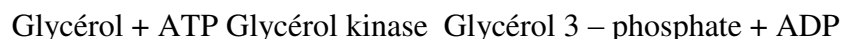
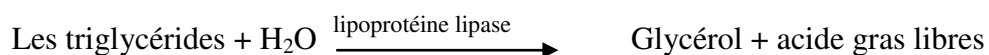
$$\text{Albumine (g/dl)} = \frac{\text{(A) échantillon}}{\text{(A) étalon}} \times 5$$

- La concentration de l'étalon = 5 g/dl

III-3-3-4 Dosage des triglycérides : (Kaplan *et al.*, 1984) Selon la fiche technique Spinreact.

-Principe :

Les triglycérides présents dans l'échantillon forment un complexe coloré selon la réaction suivante :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration des triglycérides dans l'échantillon.

-Échantillon : sérum

-Réactifs utilisés :

Les réactifs	composition	concentration
R1 tampon	GOOD PH 7.5	50 m mol/l
	P-Chlorophénol	2 m mol/l
R2 enzymes	Lipoprotéine lipase	15000 U/l
	Glycérol kinase	500 U /l
	Glycérol 3 – phosphate Peroxydase (POD)	2500 m mol/l
	4-Amin antipyrine (4-AP)	440 U/l m mol/l
	ATP	0.1 m mol/l
Triglycérides cal	Étalon de Triglycérides aqueux primaire	200 mg/dl

-Préparation de réactif de travail (RT) :

-Dissoudre le contenu de R2 dans la fiole de R1

-Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est stable 6 semaines à 2-8 C° ou une semaine à 15-25 C°.

-Mode opératoire :

	Blanc	Étalon	Échantillon
RL (ml)	1.0	1.0	1.0
Étalon (µl)	...	10	...
Échantillon (µl)	10

-Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37°C, ou 10 min à la température de 25°C.

-Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 505 nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 30 min.

-Calcule :

$$\text{Concentration des triglycérides (mg/dl)} = \frac{\text{(A) échantillon}}{\text{(A) étalon}} \times 200$$

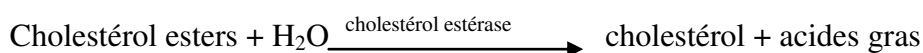
-La concentration de l'étalon = 200 mg/dl

-Facture de conversion : mg/dl x 0.011 = m mol/l

III-3-3-5 Dosage du cholestérol: (Naito, 1984). Selon la fiche technique Spinreact.

-Principe :

Le cholestérol présent dans l'échantillon forme un complexe coloré selon la réaction suivante :



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du cholestérol dans l'échantillon.

Échantillon : sérum

Réactifs utilisés :

Les réactifs	Composition	concentration
R1 tampon	PIPES PH 6.9 Phénol	90 m mol/l 26 m mol/l
R2 enzymes	Cholestérol estérase (CHE) Cholestérol oxydase (CHOD) Peroxydase (POD) 4- Aminophenazone (4- AP)	300 U/l 300 U /l 1250 m mol/l 0.4 m mol/l
Cholestérol cal	Étalon de cholestérol aqueux primaire	200 mg/dl

-Préparation de réactif de travail (RT)

-Dissoudre le contenu de R2 dans la fiole de R1.

-Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est stable 1 mois à 2-8 C° à l'abri de la lumière.

-Mode opératoire:

	Blanc	Étalon	Échantillon
H ₂ SO ₄ (ml)	1.0	1.0	1.0
Étalon (µl)	...	10	...
Échantillon (µl)	10

-Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37°C, ou 10 min à la température de 25°C.

-Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 505 nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 60 min.

-Calcul

$$\text{Concentration du cholestérol (mg/dl)} = \frac{\text{(A) échantillon}}{\text{(A) étalon}} \times 200$$

-La concentration de l'étalon = 200 mg/dl.

-Facture de conversion : mg/dl x 0.025 = m mol/l.

III-3-3-6 Dosage de créatinine : (Murray *et al.*, 1984) Selon la fiche technique Spinreact.

-Principe :

La créatinine présente dans le sérum forme en milieu alcalin un complexe coloré avec l'acide principal. La vitesse de formation de ce complexe est proportionnelle à la concentration de créatinine.

Échantillon : sérum

Réactifs utilisés :

Les réactifs	composition	concentration
R1	Acide picrique	17.5 mol/l
R2	Hydroxyde de sodium	0.29 mol/l
R3	Étalon de la créatinine aqueux primaire	2 mg/dl

-Préparation et stabilité :

-Les réactifs sont peut être à l'emploi, stable à température ambiante.

-Réactif du travail : mélanger à parts égales R1 et R2.

-Stabilité : 10 jours à 15-25 C°.

-Mode opératoire :

	Blanc	Étalon	Échantillon
RT (ml)	1.0	1.0	1.0
Étalon (µl)	...	100	...
Échantillon (µl)	100

-Mélanger et lire la densité optique DO1 après 30 sec, à 492 nm.

-Lire ensuite DO2 exactement 1 minute après.

-Calcule : calculé $\Delta DO = DO2 - DO1$ pour le standard et les échantillons

-La concentration de l'étalon = 2 mg/dl.

-Facture de conversion : mg/dl x 88.4 = µ mol/l.

ΔDO Échantillon

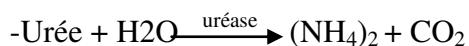
Concentration de la créatinine (mg/dl) = $\frac{\Delta DO \text{ Échantillon}}{\Delta DO \text{ Standard}} \times 2$

ΔDO Standard

III-3-3-7 Dosage de l'urée: (kaplan *et al.*, 1984) Selon la fiche technique Spinreact.

-Principe :

La technique utilisée pour la détermination du taux de l'urée est la méthode enzymatique utilisant l'uréase selon la réaction suivante :



-Les ions d'ammonium peuvent réagir avec le salicylate et di hypochlorite de sodium pour donner un complexe coloré en vert, L'intensité de couleur est proportionnelle à la concentration de l'urée présentée dans l'échantillon.

Échantillon : sérum

Réactifs utilisés :

Les réactifs	composition	concentration
R1 tampon	phosphate EDTA Salicylate de sodium Nitroprusside de sodium	50 mol/l 2 m mol/l 60 m mol/l 3.2m mol/l
R2 NaClO	Hypochlorite de sodium Hydroxyde de sodium	140 m mol/l 150 m mol/l
R3 Enzyme	Uréase	3000 U/l
R4 Étalon	Étalon de l'urée aqueux primaire	50 mg/dl

-Préparation de réactif de travail (RT) :

-Dissoudre un comprimé de R3 Enzyme dans la fiole de R1.

-Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est stable 4 semaines à 2-8 C° ou une semaine à 15-25C°.

-Mode opératoire :

R (ml)	1.0	1.0	1.0
Étalon (µl)	...	10	...
Échantillon (µl)	10
Mélanger et incuber pendant 5 min à 37C°, ou 10 min températures de 25C°			
R2 NaCLO (ml)	1.0	1.0	1.0

-Mélanger et incuber pendant 5 min à 37C°,ou 10min températures de 25C°.

-Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 580 nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 30 min à 15-25C°.

Calcule : La concentration de l'urée est calculée par la formule suivante :

$$\text{Concentration de l'urée (mg/dl)} = \frac{\text{(A) échantillon}}{\text{(A) étalon}} \times 50$$

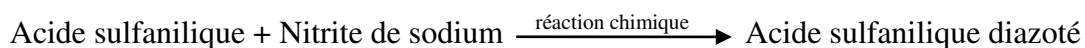
-La concentration de l'étalon = 50 mg/dl.

III-3-3-8 Dosage de bilirubine totale : (kaplan *et al.*, 1984) Selon la fiche technique

Spinreact.

-Principe :

La bilirubine est définie comme la quantité de pigment dans le sérum réagissant avec l'acide sulfanilique diazoté à pH acide pour produire l'azobilirubine quantifiable par spectrophotométrie.



Acide sulfanilique diazoté + Bilirubine $\xrightarrow{\text{réaction de couplage}}$ Azobilirubine

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de la bilirubine dans l'échantillon.

Échantillon : sérum.

Réactifs utilisés :

Les réactifs	composition	concentration
R1 (D)	Acide sulfonique	30 mol/l
	Acide hydro chlorhydrique	150 m mol/l
R2 (T)	Acide sulfonique	30 m mol/l
	Acide hydro chlorhydrique	150 m mol/l
	Dimethyl sulfoxide (DMSO)	7 mol/l
R3	Nitrite de sodium	29 m mol/l
facultatif	Étalon de bilirubine	Ref : 1002250

-Préparation de réactif de travail (RT): les réactifs sont prêts à l'emploi.

-Mode opératoire :

	Blanc	B totale	Blanc	B directe
R1 (D) (ml)	1.5	1.5
R2 (T) (ml)	1.5	1.5
R3 (μl)	...	50	...	50
Échantillon /Étalon (μl)	100	100	100	100

-Mélanger et incuber pendant 15 minutes à 15-25C°.

-Mesurer l'absorbance (A) à 555 nm.

Calcul : avec l'étalon

$$\text{-bilirubine (mg/dl)} = \frac{(A) \text{ ech} - (A) \text{banc ech}}{(A) \text{ étalon} - (A) \text{ blanc étalon}} \times \text{concentrations de l'étalon}$$

-Avec la facture :

$$\text{-Bilirubine (mg/dl)} = ((A) \text{ échantillon} - (A) \text{ blanc échantillon}) \times \text{Facture}$$

$$\text{facture} = \frac{\text{Concentration de l'étalon}}{(A) \text{ étalon} - (A) \text{ blanc étalon}}$$

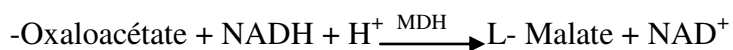
-Facture théorique : Bilirubine (T) = 19.1.

-Facture de conversion : mg/dl x 17.1 = m mol/l.

III-3-3-9 Dosage de l'aspartate aminotransferase (ASAT/TGO) : (Bergmyer, 1980) Selon la fiche technique **Biomagheb**.

-Principe :

Détermination cinétique de l'activité Aspartate aminotransferase. Le schéma réactionnel est la suivante :



-Le taux de la diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité Aspartate aminotransferase dans l'échantillon.

-Échantillon : sérum.

-Réactifs utilisés :

Les réactifs	composition	concentration
R1 solution tampon	Tampon Tris pH 7.8 à 30C° L-Asperate	80 m mol/l 200 m mol/l
R2 substrat et enzymes	NADH LDH MDH Oxoglutarate	0.18 m mol/l 800 U/l 600 U/l 12 m mol/l

-Préparation de réactif de travail et stabilité :

-Dissoudre le contenu de R2 dans la fiole de R1.

-Agiter bien et doucement jusqu'à elle devient homogène.

Mode opératoire :

Solution de travail	3 ml
Préincuber à la température 37C°	
Échantillon	50µl
Mélanger et incuber les tubes préparés 1 minute à 37 C°. Mesurer la diminution de la densité optique par minute pendant 1 à 3 minute à 340 nm.	

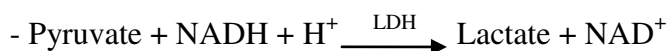
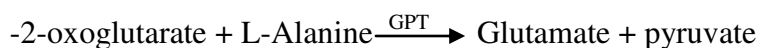
Activité (ASAT/TGO) UI/l = $\Delta DO \times 175$

ΔDO : C'est la valeur moyenne des trois lectures.

III-3-3-10 Dosage de l'alanine aminotransferase (ALAT/GPT): (Bergmyer, 1980) Selon la fiche technique **Biomaghreb**.

-Principe :

Détermination cinétique de l'activité Alanine amino transférase. Le schéma réactionnel est le suivant :



-Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité alanine transférase dans l'échantillon.

Échantillon : sérum.

Réactifs utilisés :

Les réactifs	composition	concentration
R1 solution tampon	Tampon Tris pH 7.5 à 30C° Alanine	100 m mol/l 500 m mol/l
R2 substrat et enzymes	NADH LDH Oxoglutarate	0.18 m mol/l 1200 U/l 15 m mol/l

-Préparation de réactif de travail et stabilité :

Reconstituer chaque R2 par 1 flacon R1. Cette solution de travail est stable 7 jours à 2-8 C°
24 heures à 20-25 C°.

Mode opératoire :

Solution de travail	3 ml
Préincuber à la température 37C°	
Échantillon	50µl
Mélanger et incuber les tubes préparés 1 minute à 37 C°. Mesurer la diminution de la densité optique par minute pendant 1 à 3 minute à 340 nm.	

Activité (ALAT/GPT) UI/l = $\Delta DO \times 1750$

III-3-4 Techniques histologiques : (Martoja et Martojar, 1967)

III-3-4-1 Fixation

Cette étape est la plus importante de la préparation histologique ; elle a pour but d'immobiliser les structures en respectant dans la mesure du possible leur morphologie, de les conserver, permettre la confection de préparation permanente et renforcer l'intensité de la coloration ultérieure (**Gabe, 1968**). L'agent fixateur, d'une manière générale, coagule et ou solidifie le gel protéique qui circule entre les mailles du réseau membranaire limitant le hyaloplasme et les organites.

Les organes sont plongés dans un volume (environ 60 fois supérieur à celui de l'organe) de Bouind-hollande 2 à 3 jours, pour la coloration topographique.

- **Liquide de Bouin-Hollonde :**

- a) **Solution mère**

- Eau distillée (100 ml).
 - Acétate de cuivre (2,5 g).

- Ajouter peu à peu, en reuant 4 g d'acide picrique (ne jamais broyer à sec, risque d'exposition).
- Filtrer la solution.

b) Bouin-Hollande : au moment de l'emploi on mélange :

- Solution mère (100 ml).
- Formol neutre à 40 % (10 ml).
- Acide acétique (5 ml).

Après fixation, les pièces sont lavées pendant 24 h à l'eau courante renouvelée plusieurs fois avant la déshydratation, chaque pièce étant accompagnée dans le flacon d'une étiquette portant l'ensemble des indications utiles.

III-3-4-2 Inclusion dans la paraffine

Le but de l'inclusion est de donner aux pièces la consistance ferme nécessaire à la coupe, l'ensemble du processus d'inclusion comporte quatre étapes :

a) Déshydratation :

- La pièce est trempée successivement dans l'alcool à 70°, l'alcool à 96° et enfin dans l'alcool absolu, en respectant les temps.
- Deux bain d'alcool à 70°, dont le premier peut assurer une conservation illimitée et un 2^{ème} bain de 30 min (alcool à 70° : 100 ml d'alcool à 96 + 40,85 ml d'eau distillée).
- Deux bains d'alcool 96° de 30 min.
- Deux bains d'alcool 100° de 30 min.

b) Éclaircissent ou imprégnation par le liquide intermédiaire :

Cette étape permet l'élimination complète des traces d'alcool et l'imprégnation par le solvant de la paraffine, qui est le butanol. La durée du premier bain est de 24 heures, le second bain dure au moins trois jours.

c) Emparaffinage ou pénétration des pièces par la paraffine :

Le but de cette étape est d'obtenir une imprégnation aussi complète que possible des pièces par la paraffine. La pièce est passée successivement dans 3 bains de paraffine d'une durée de 2 heures chacun à la température de fusion de la paraffine (56 à 58°C) : le premier bain est formé d'un mélange de butanol et de paraffine (v/v), les deux autres de paraffine pure.

d) Mise en bloc en enrobage proprement dit :

Nous avons utilisé des moules de métal (Tissu-TEK III) et des cassettes en plastique sur lesquelles sont inscrits les numéros des pièces. La paraffine liquide est versée dans les moules légèrement préchauffés à 45°C. La pièce à inclure est déposée, et une cassette est placée sur le moule. Le bloc est refroidi rapidement sur une plaque métallique réfrigérée, environ 15 min plus tard, le bloc a complètement durci et il est prêt à être coupé.

III-3-4-3- Confection des coupes :

La confection des coupes a été réalisée à l'aide d'un microtome de type Historange, LKB. Après installation du bloc, le rabotage commence en ajustant l'échelle à 20 ou 15 μm , celle-ci est ramenée à 4 μm ou moins, pour avoir des coupes fines.

III-3-4-4- Étalement des coupes

L'étalement des coupes a été effectué dans un bain thermostaté dont la température est inférieure, d'au moins 5 à 10°C, au point de fusion de la paraffine. Les coupes recueillies sont

ensuite collées sur les lames de verre puis séchées à 60°C dans une étuve. A l'aide d'un diamant, les indications de l'organe sont préalablement gravées sur la lame.

III-3-4-5- Coloration

Le but de la coloration est de rendre plus évidents les différents constituants cellulaires et tissulaires. Ceci est obtenu à l'aide d'une coloration topographique au hématoxyline, qui est la plus couramment employée.

Les coupes ne seront prêtes à recevoir les colorants qu'après les deux étapes suivantes :

a) Déparaffinage : le déparaffinage sert à enlever la paraffine du tissu pour que les colorants puissent le pénétrer. Le réactif utilisé est le toluène. Les coupes sont passées dans 4 bains de toluène pendant 5 à 10 min chacun. Le toluène du dernier bain doit être pur.

b) Hydratation : elle a pour objet de retirer le toluène du tissu et le remplacer par l'eau. Les pièces sont passées dans l'éthanol l'un à 96° et l'autre à 70° d'une durée de 3 à 5 min chacun. Les pièces sont enfin lavées à l'eau courante pendant 5 min environ avant coloration.

c) Colorations proprement dites :

Coloration au hématoxyline-éosine, cette technique est utilisée pour mettre en évidence les éléments cellulaires et tissulaires, le noyau apparaît coloré en bleu, le cytoplasme et le tissu conjonctif extracellulaire en rose.

- **Hémalun acide de Mayer**

- Hématoxyline (1 g)
- Eau distillée (1000 ml)
- Dissoudre à chaud et refroidir
- Iodate de Na (0.2 g)

- Alun de K (50 g)
- Dissoudre
- Hydrate de chloral (1g)
- Acide citrique (1g)
- Dissoudre et conserver bouché
- Éosine
- Eau distillée

Les lames sont mises dans l'Hémalun pendant 6 min, rincer à l'eau. Puis dans l'HCL 0.5% en faisant plonger les lames 2 fois et dans lithinée 2 min avant de rincer, les faire passer dans l'éosine pendant 5 min, puis rincer 3 fois pendant 5 min.

d) Déshydratation :

Les lames colorées sont plongées successivement pendant quelques secondes dans l'alcool à 70°, l'alcool à 96° et enfin dans deux bains d'alcool absolu, le premier pendant quelques secondes et le second pendant 5 min, toluène 5 min.

III-3-4-6- Le montage :

Le montage et l'opération qui consiste à fixer, à l'aide d'une goutte de l'Eukitt, une lamelle de verre sur l'échantillon histologique, qui permette l'adhérence entre la lame et la lamelle. Une légère pression sur la lamelle permet de chasser les bulles d'air. Après montage, les lames sont séchées sur papier absorbant, nettoyées au toluène puis observées par un microscope optique.

III-4- Étude statistique

Les résultats statistiques sont exprimés en moyennes \pm erreur standard. La comparaison des moyennes a été effectuée par le test-t de Student deux à deux entre le groupe témoin et chaque groupe traité. L'analyse statistique des données a été effectuée par le logiciel Minitab 16.

IV- Résultats

IV- 1- Poids corporel

La variation du poids corporel durant 6 semaines de traitement des différents lots traités par l'éthanol et le lot témoin sont présentés dans la figure 6. Les résultats obtenus montrent qu'il n'y a aucun changement du poids corporel pendant toute la période du traitement pour les 3 lots traités par l'éthanol à la dose 2 g/kg/j, 2.5 g/kg/j et 3 g/kg/j par rapport au lot témoin.

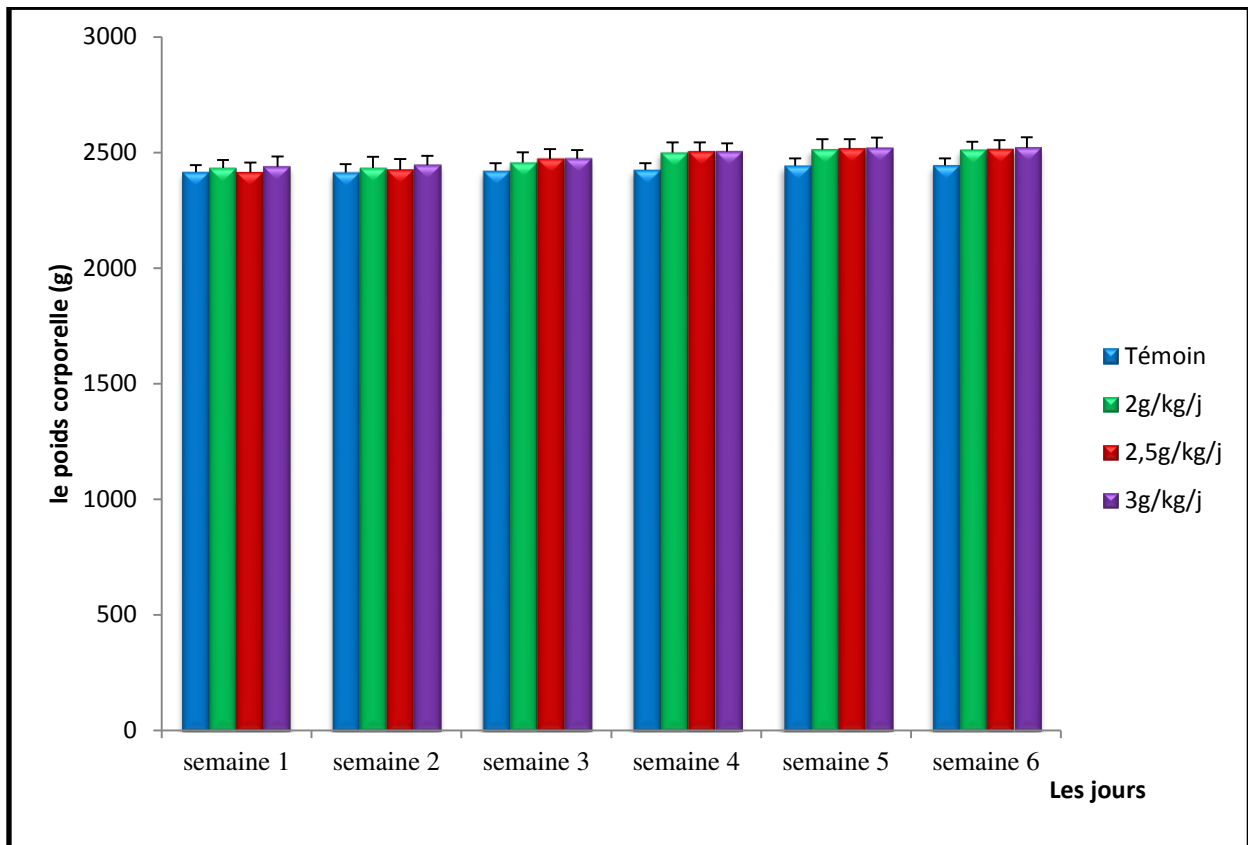


Figure 6 : Le poids corporel des lapins de différents lots. Groupe témoin (non traité) et groupes traités par l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). Les valeurs sont exprimées par moyenne \pm erreur standard.

IV- 2- Poids absolu des organes

IV - 2-1- Poids absolu des testicules

Les résultats obtenus dans la figure 7 montrent une diminution significative et dose dépendante du poids des testicules chez les lots traités avec l'éthanol comparés au lot témoin.

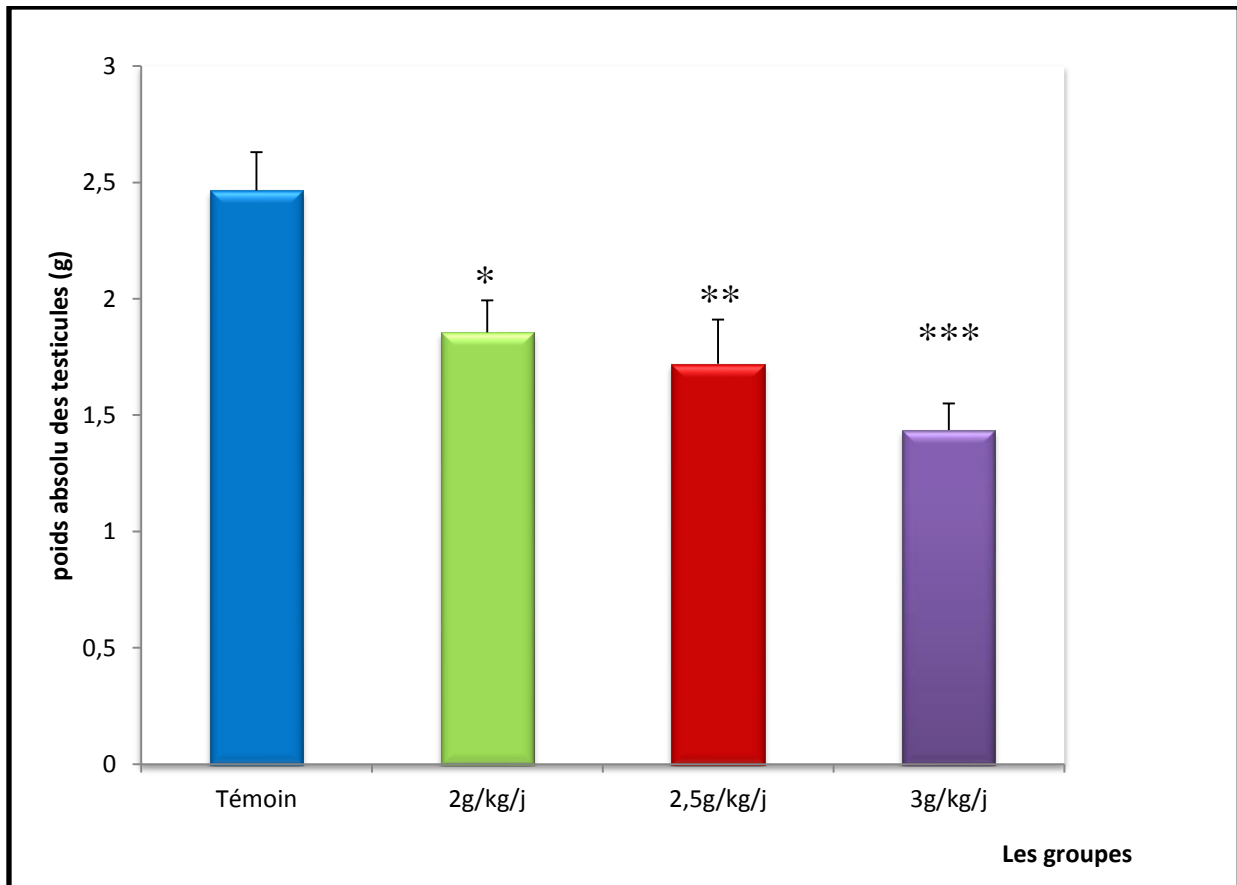


Figure 7 : Le poids des testicules des lapins de différents lots. Groupe témoin (non traité) et groupes traités avec l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). Les valeurs sont exprimées par moyenne \pm erreur standard. * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$.

IV - 2-2- Poids absolu d'épididyme

Concernant le poids d'épididyme (fig 8), les résultats illustrent une diminution non significative du poids d'épididyme chez le lot traité par 2g/kg/j d'éthanol comparés au lot témoin, et une diminution significative et hautement significative chez les lots traités respectivement par 2.5 g/kg/j et 3 g/kg/j d'éthanol par rapport au lot témoin.

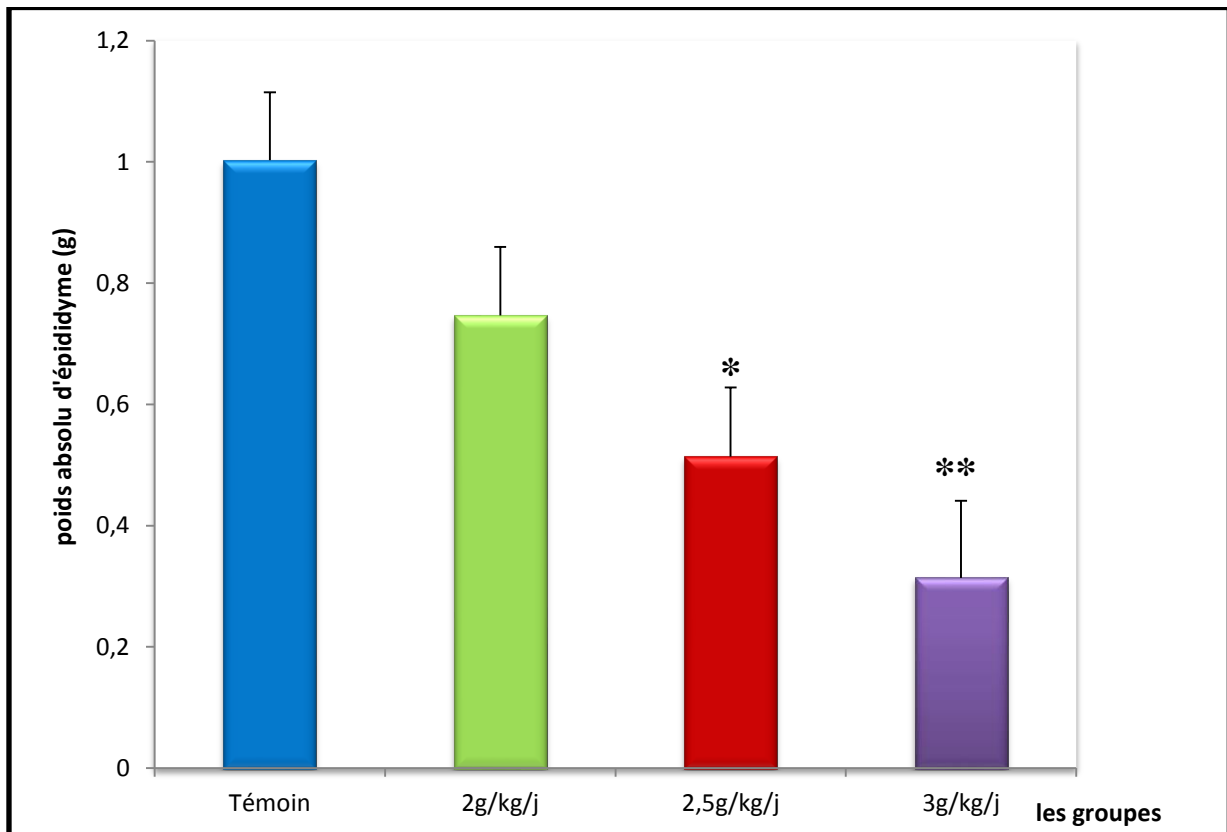


Figure 8 : Le poids absolu d'épididyme des lapins de différents lots. Groupe témoin (non traité) et groupes traités avec l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). Les valeurs sont exprimées par moyenne \pm erreur standard. *P \leq 0,05 ; ** P \leq 0,01.

IV - 2-3- Poids absolu du foie

Les résultats obtenus (fig 9) révèlent une augmentation significative du poids du foie chez le groupe traité par 2g/kg/j d'éthanol, accompagné d'une augmentation hautement significative et très hautement significative chez les groupes traités respectivement par 2,5g/kg/j et 3g/kg/j d'éthanol comparés au groupe témoin.

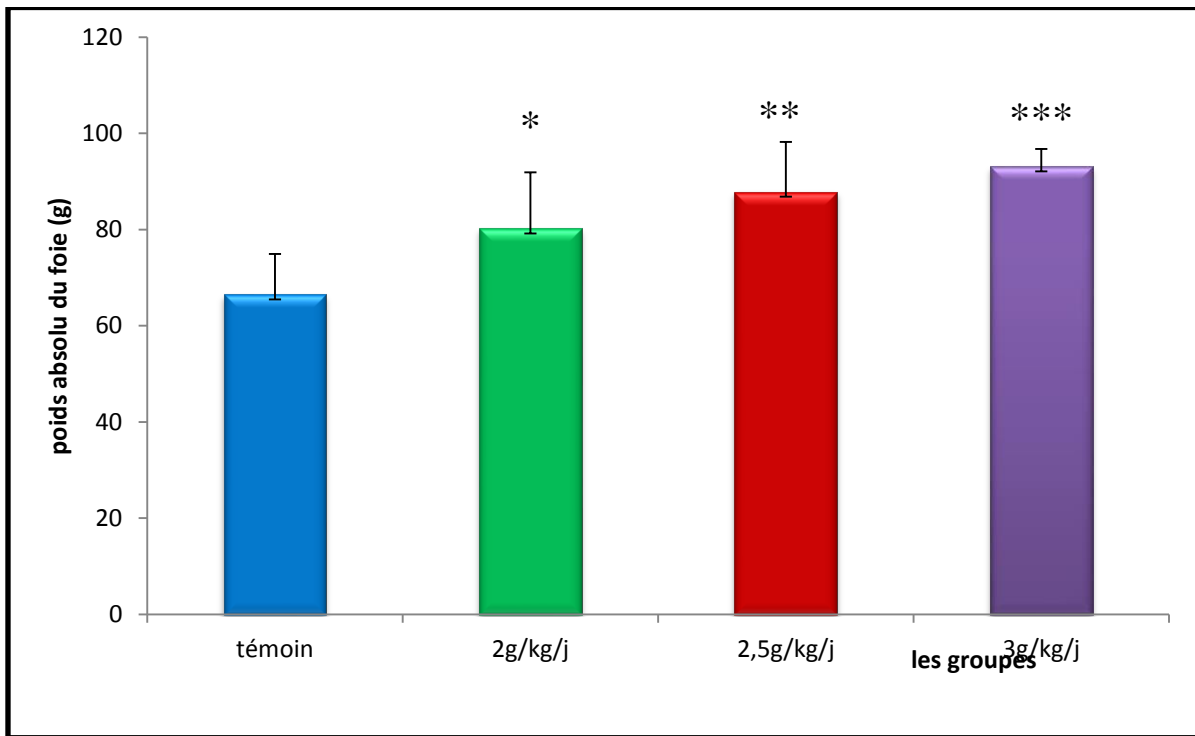


Figure 9 : Le poids absolu du foie des lapins de différents lots. Groupe témoin (non traité) et groupes traités avec l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). Les valeurs sont exprimées par moyenne \pm erreur standard. * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$.

IV - 2-4- Poids absolu des reins

En ce qui concerne le poids des reins (fig 10), les résultats indiquent qu'il y a une diminution non significative chez le groupe traité au 2g/kg/j d'éthanol, avec une diminution hautement significative chez le groupe traité au 2,5g/kg/j et très hautement significative chez le groupe traité au 3g/kg/j d'éthanol par rapport au groupe témoin.

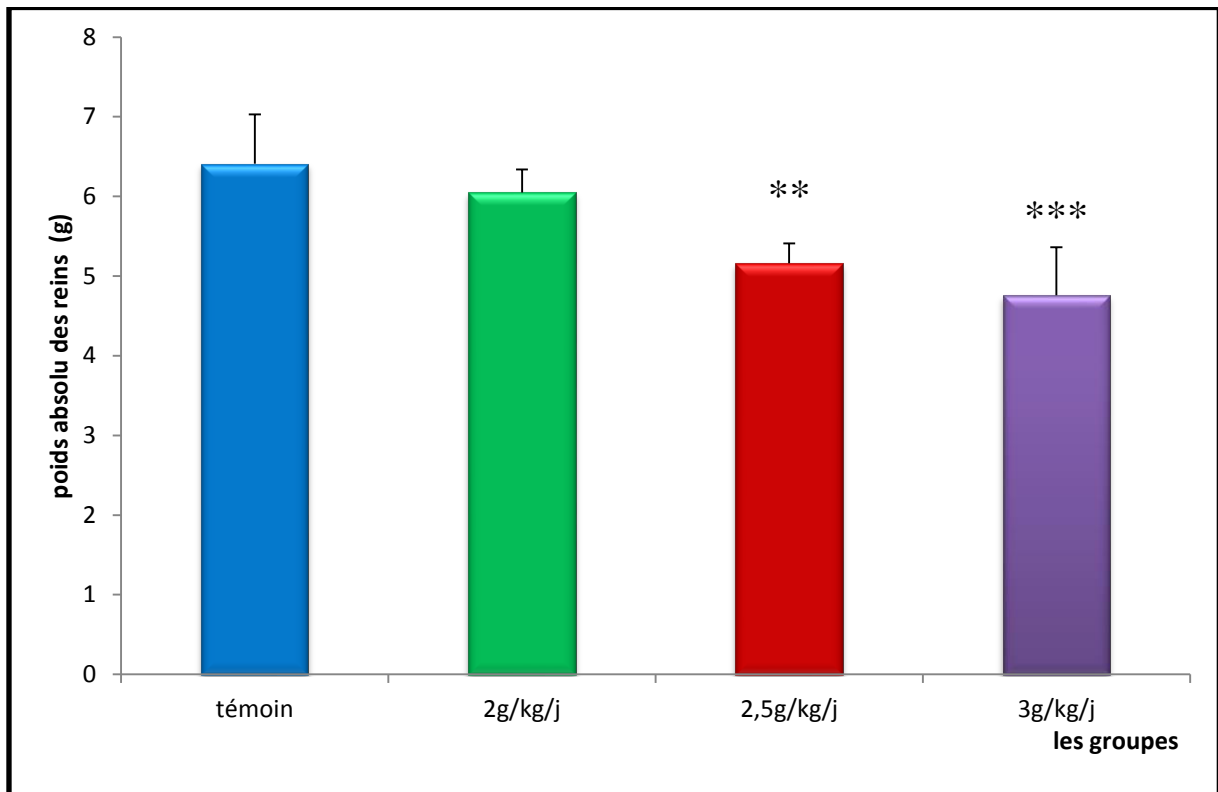


Figure 10 : Le poids des reins des lapins de différents lots. Groupe témoin (non traité) et traités avec l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). Les valeurs sont exprimées par moyenne \pm erreur standard. ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$.

IV – 3- Paramètres indicateurs de la fertilité

IV – 3-1- Paramètres spermatiques

Nous constatons une diminution significative dans la vitesse, la mobilité et la concentration des spermatozoïdes (Tableau 2) chez les groupes traités par la dose 2 g/kg/j d'éthanol, avec une diminution hautement significative chez les groupes traités aux doses 2,5 et 3 g/kg/j d'éthanol. La vitalité des spermatozoïdes (Fig 11 et12) a diminué très significativement chez tous les groupes traités par rapport au groupe témoin. Par ailleurs nos résultats (Fig 13) révèlent qu'il existe une augmentation hautement significative des taux de spermatozoïdes avec anomalies de la pièce intermédiaire et du flagelle chez tous les lots traité comparés au lot témoin.

Les groupes	concentration de spermatozoïdes ($\times 10^6$ /ml)	mobilité de spermatozoïdes (%)	vitesse de spermatozoïdes (μ m/sec)
Groupe témoin (n=7)	473 ,7 \pm 38,7	63 ,04 \pm 4,09	43,11 \pm 3,51
2 g/kg/j (n=7)	342 \pm 39 ,1*	53,27 \pm 2,86*	31,15 \pm 5,52*
2,5 g/kg/j (n=7)	300,3 \pm 36,2**	40,99 \pm 3,09**	22,64 \pm 6,66**
3g/kg/j (n=7)	252,7 \pm 38,6**	35,4 \pm 3,67**	18,49 \pm 5,55**

Tableau 2 : La concentration, la mobilité et la vitesse des spermatozoïdes des lapins de différents lots. Groupe témoin (non traité) et groupes traités par l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). Les valeurs sont exprimées par moyenne \pm erreur standard. *P \leq 0,05 ;** P \leq 0,01.

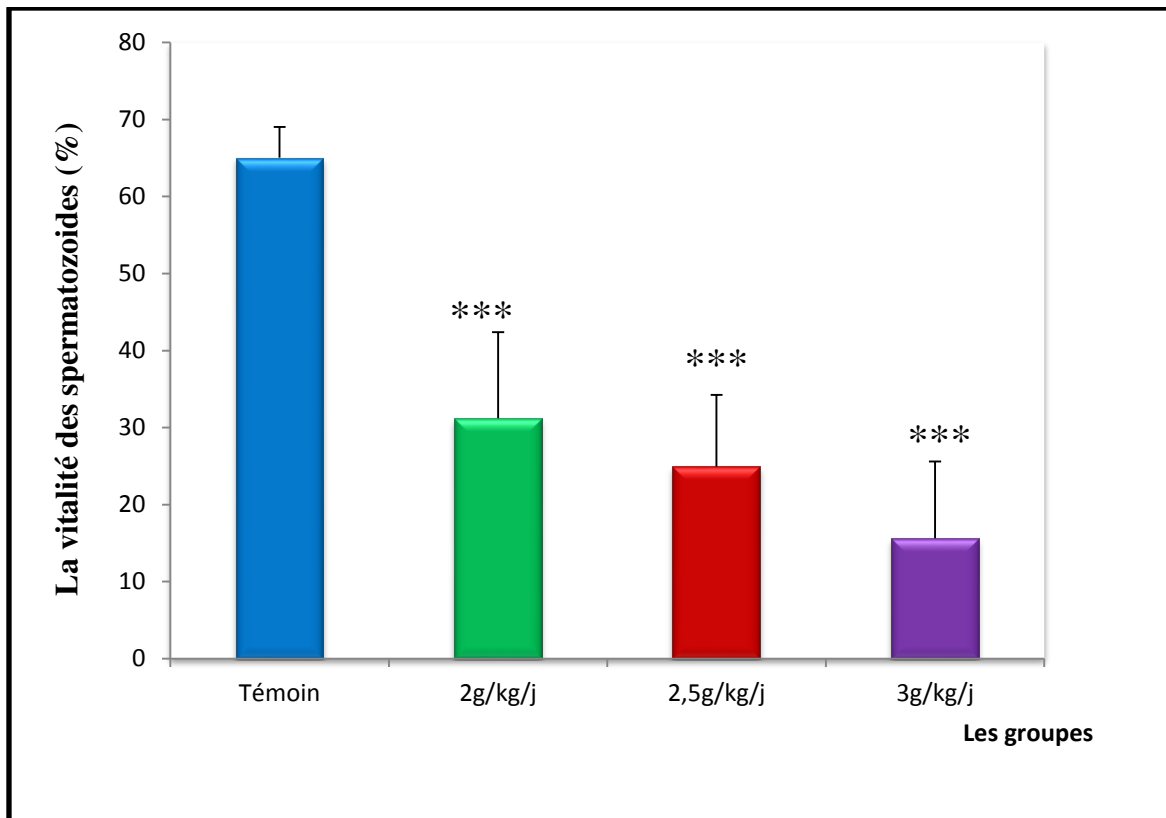


Figure 11 : Taux des spermatozoïdes vivants (moyenne \pm erreur standard, %) des lapins de différents lots. Groupe témoin (non traité) et groupes traités avec l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). ***P \leq 0,001.

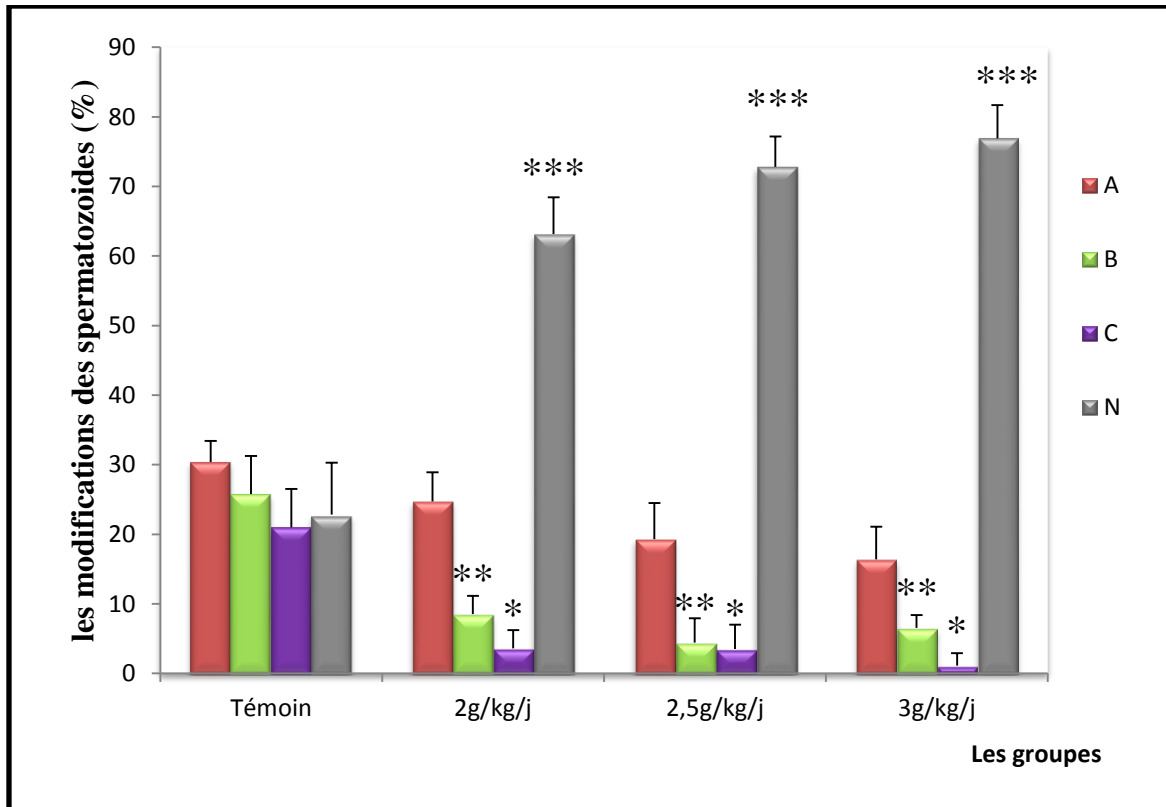


Figure 12 : Taux des modifications du flagelle des spermatozoïdes exposés au stress hypo-osmotique (moyenne \pm erreur standard, %) chez les lapins des différents lots. Groupe témoin (non traité) et traités avec l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7).

* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$.

A : modification faible du flagelle,

B : modification importante du flagelle,

C : modification très importante du flagelle,

N : pas de modification.

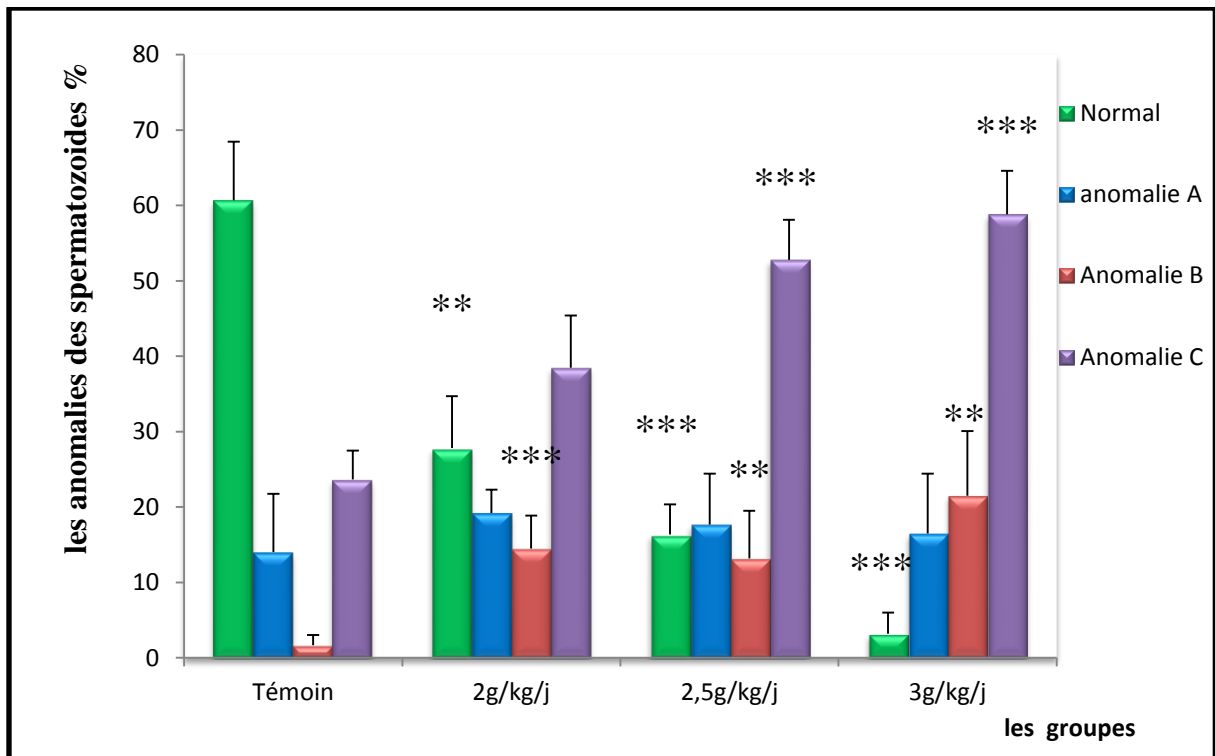


Figure 13 : Taux des anomalies des spermatozoïdes (moyenne \pm erreur standard, %) chez les lapins des différents lots. Groupe témoin (non traité) et groupes traités avec l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$.

Anomalie A : anomalie au niveau de la tête.

Anomalie B : anomalie de la pièce intermédiaire.

Anomalie C : anomalie au niveau du flagelle.

Normal : spermatozoïde sans anomalie.

IV – 3-2- Taux de testostérone

Les résultats du taux de testostérone (Fig 14) révèlent qu'il existe une diminution significative chez tous les lots traités comparés au lot témoin.

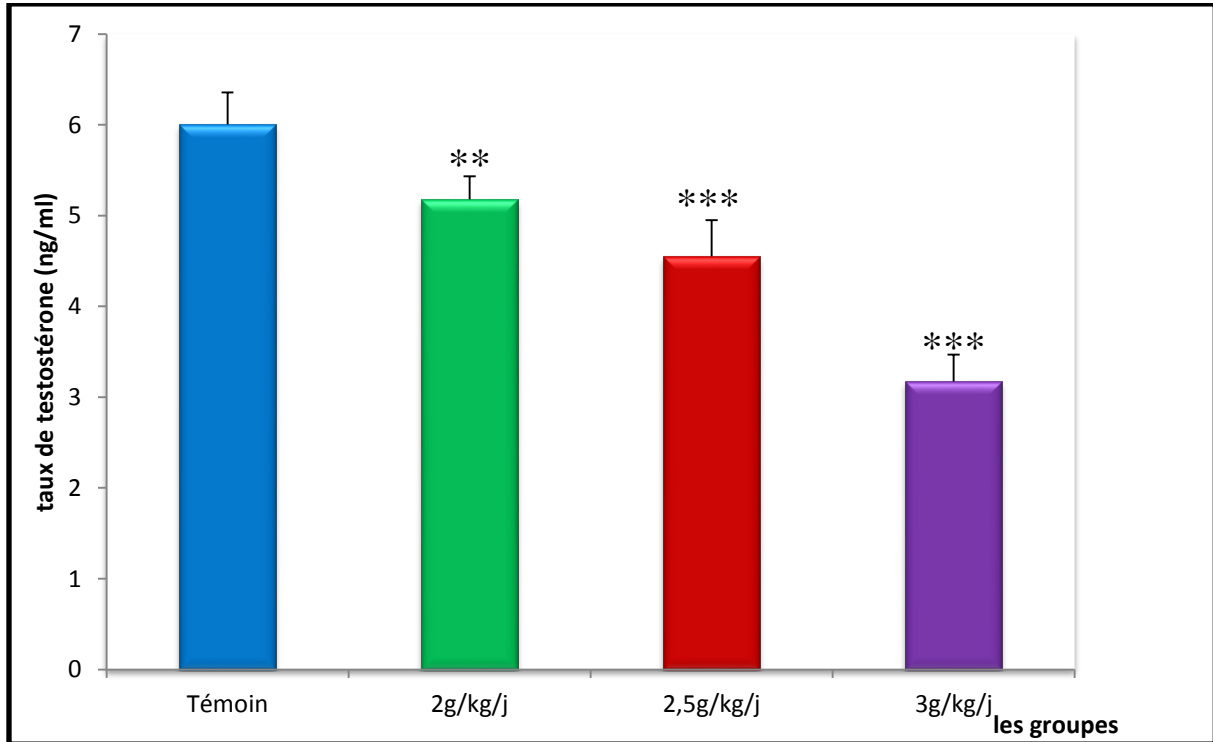


Figure 14 : Taux de testostérone en moyenne \pm erreur standard (ng/ml) chez les lapins des différents lots. Groupe témoin (non traité) et groupes traités avec l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). *** $P \leq 0,001$.

IV -4 Les paramètres hématologiques

IV - 4-1- Nombre des globules rouges

En ce qui concerne le nombre des globules rouges (fig 15), nous constatant une diminution significative chez les groupes de la dose 2g/kg/j et 2,5g/kg/j, et hautement significative chez le groupe de la dose 3g/kg/j d'éthanol par rapport au groupe témoin.

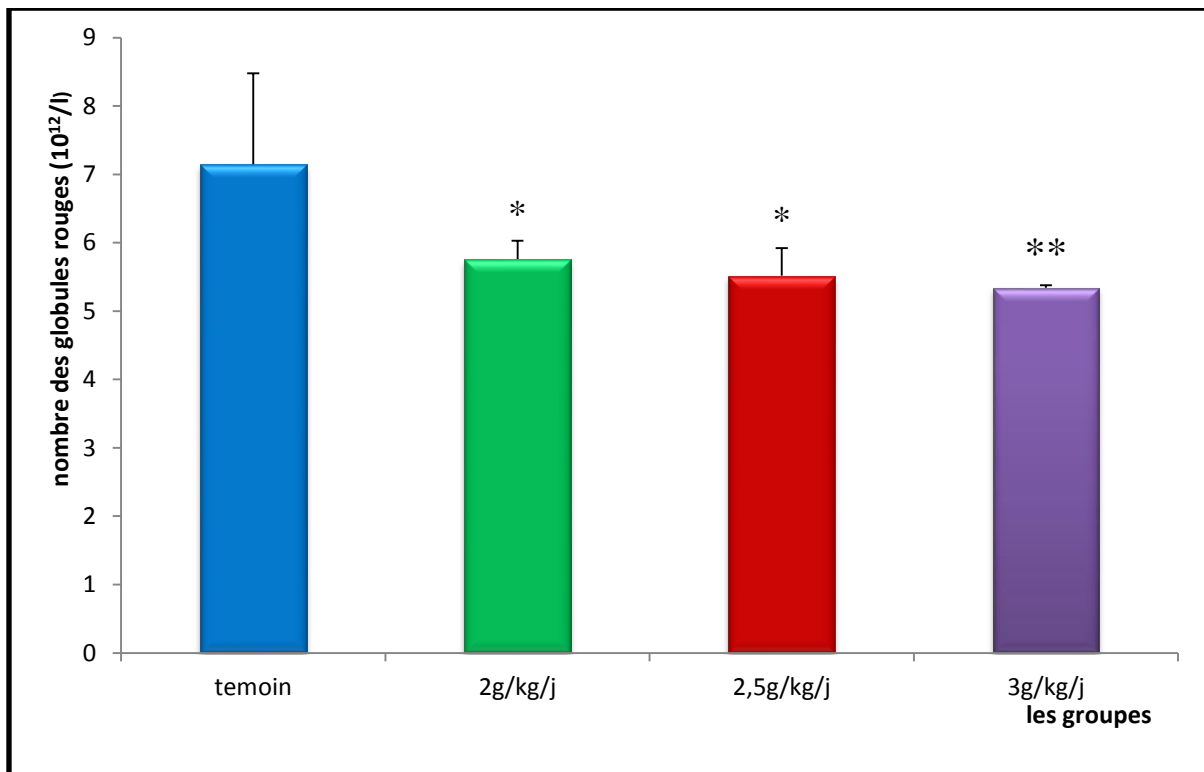


Figure 15 : Le taux des globules rouges des lapins de différents lots. Groupe témoin (non traité) et groupes traités avec l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). Les valeurs sont exprimées par moyenne \pm erreur standard. *P \leq 0,05 ; ** P \leq 0,01.

IV - 4-2- Nombre des globules blancs

D'après les résultats présentés dans la figure 16, on constate que le nombre des globules blancs augmente d'une façon significative chez le groupe de la dose 2g/kg/j d'éthanol et hautement significative chez le groupe de la dose 2,5g/kg/j d'éthanol comparé au groupe témoin. On constate aussi une augmentation très hautement significative du taux des globules blancs chez le groupe de la dose 3g/kg/j d'éthanol par rapport au groupe témoin.

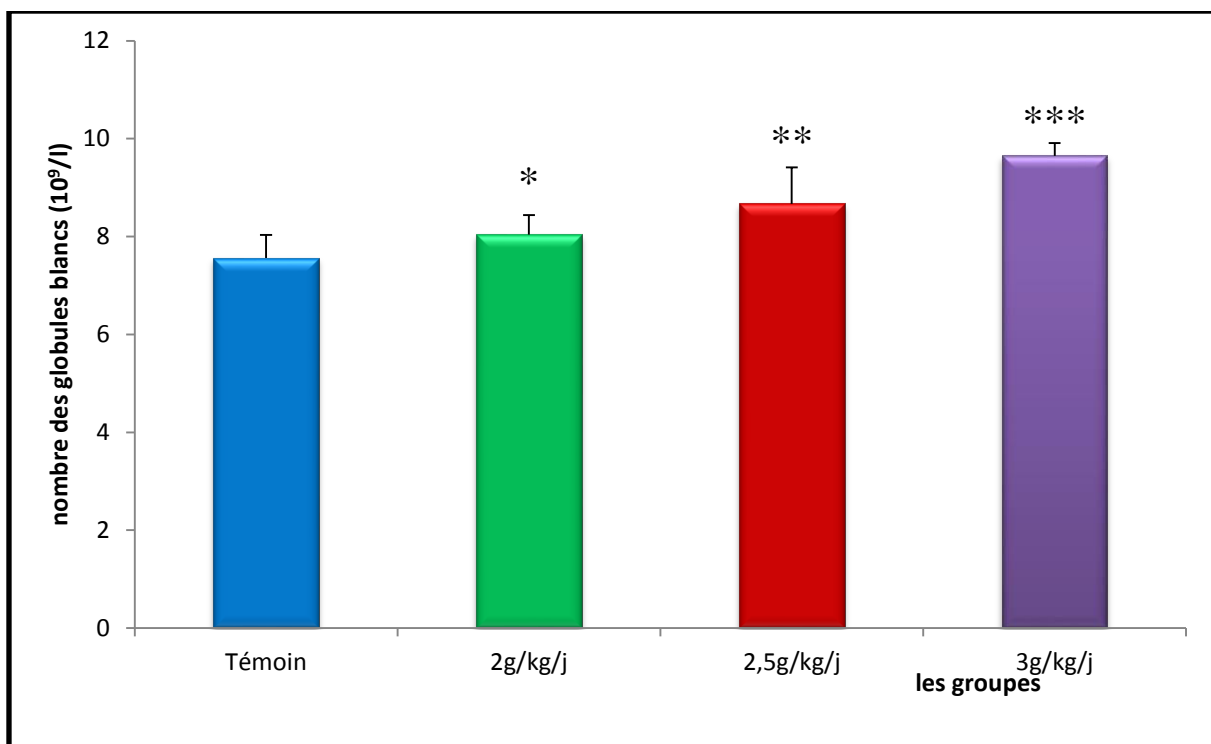


Figure 16 : Le taux des globules blancs des lapins de différents lots. Groupe témoin (non traité) et groupes traités avec l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). Les valeurs sont exprimées par moyenne \pm erreur standard. * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$;

*** $P \leq 0,001$.

IV - 4-3- Taux d'hémoglobine

Nos résultats (fig 17) révèlent que le traitement des lapins par l'éthanol diminue le taux d'hémoglobine. Cette diminution est hautement significative chez les trois lots traités par l'éthanol par rapport au lot témoin.

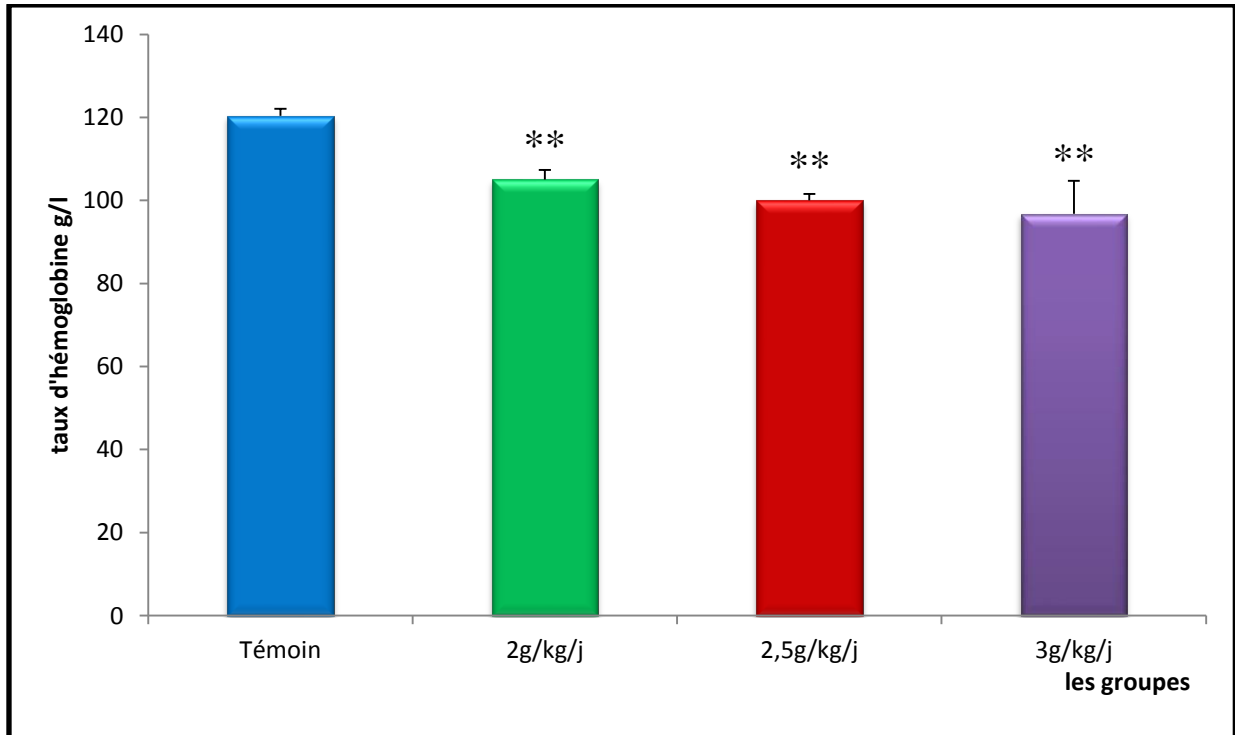


Figure 17 : Le taux d'hémoglobine des lapins de différents lots. Groupe témoin (non traité) et groupes traités avec l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). Les valeurs sont exprimées par moyenne \pm erreur standard. ** $P \leq 0,01$.

IV - 4-4- Taux d'hématocrite

L'analyse du taux d'hématocrite (fig 18) montre l'existence d'une diminution significative et dose dépendante chez les trois lots traités par rapport au lot témoin.

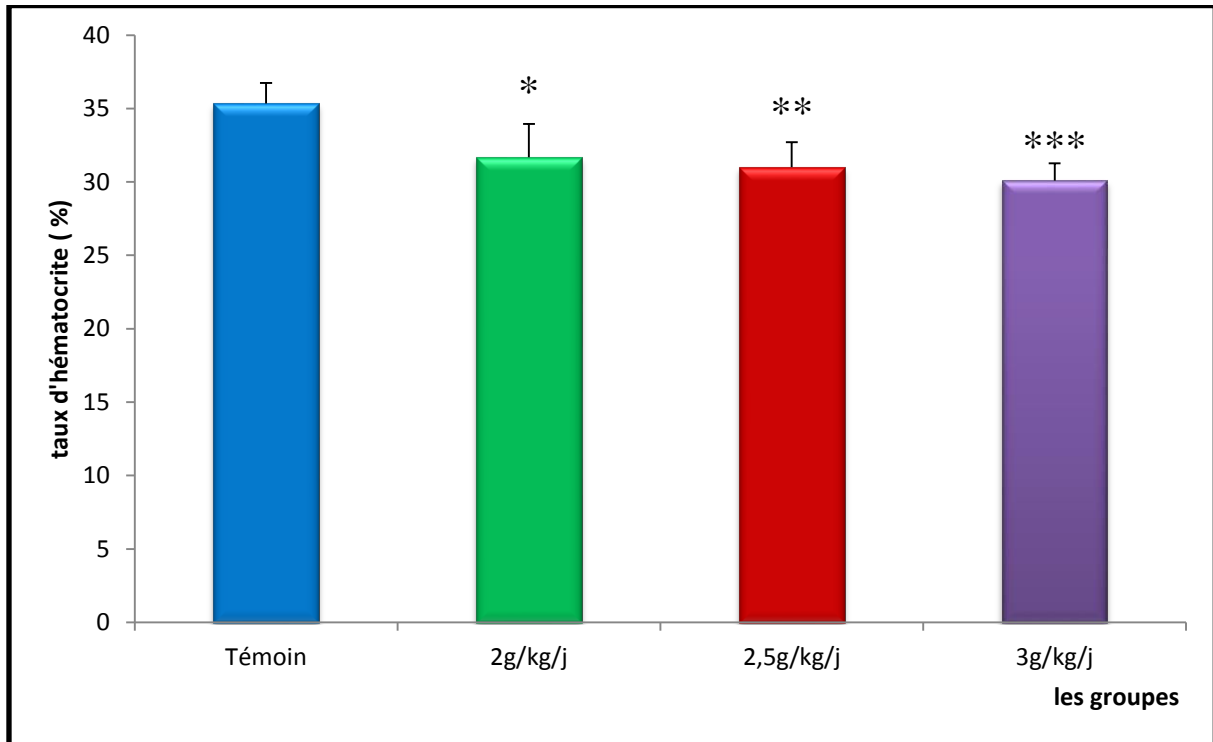


Figure 18 : Le taux d'hématocrite des lapins de différents lots. Groupe témoin (non traité) et groupes traités avec l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). Les valeurs sont exprimées par moyenne \pm erreur standard. * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$.

IV - 4-5- Taux des plaquettes

D'après les résultats obtenus (fig 19), l'éthanol a provoqué une augmentation significative et dose dépendante du taux des plaquettes (PLT) chez les lots traités par rapport au lot témoin.

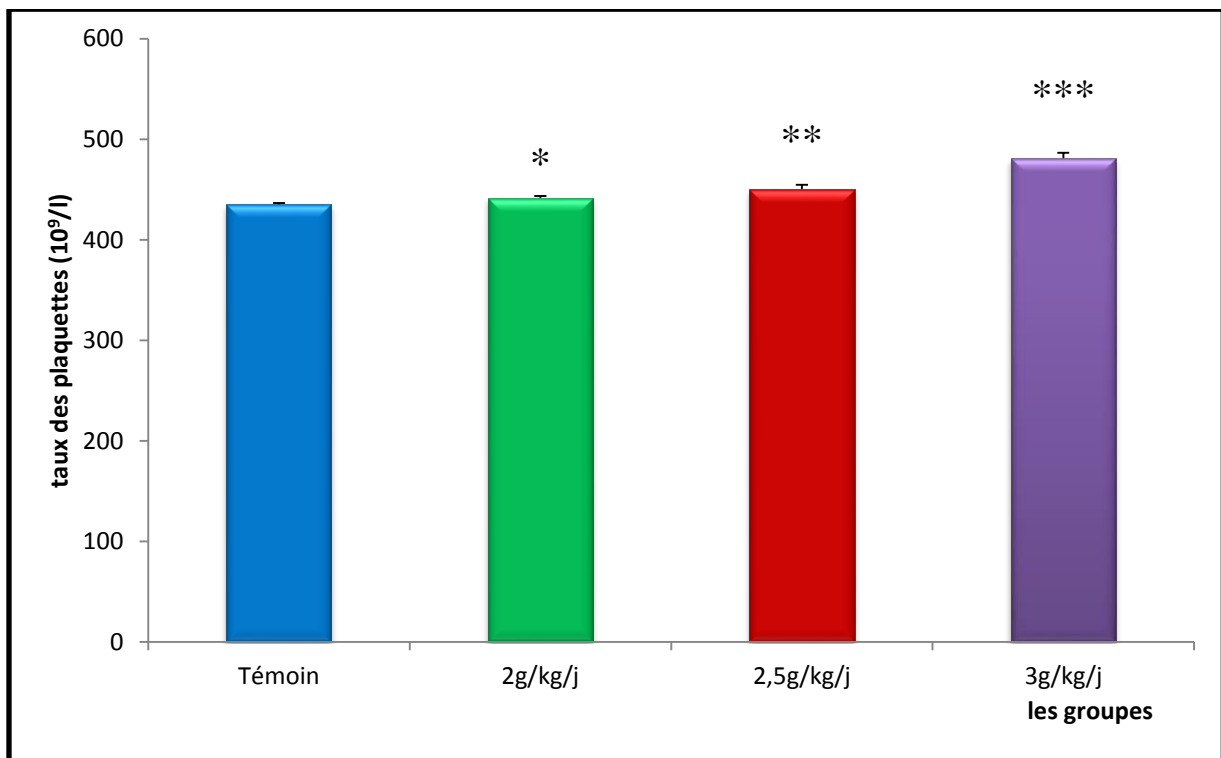


Figure 19 : Le taux des plaquettes des lapins de différents lots. Groupe témoin (non traité) et groupes traités avec l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). Les valeurs sont exprimées par moyenne \pm erreur standard. *P \leq 0,05 ; ** P \leq 0,01 ; *** P \leq 0,001.

IV - 5- Paramètres biochimiques

IV- 5-1- Taux de TGO

Les résultats (fig 20) illustrent une augmentation hautement significative du taux de TGO chez les lapins de la dose 2g/kg/j et 2,5g/kg/j d'éthanol, et une augmentation très hautement significative chez le groupe de la dose 3g/kg/j d'éthanol par rapport au groupe témoin.

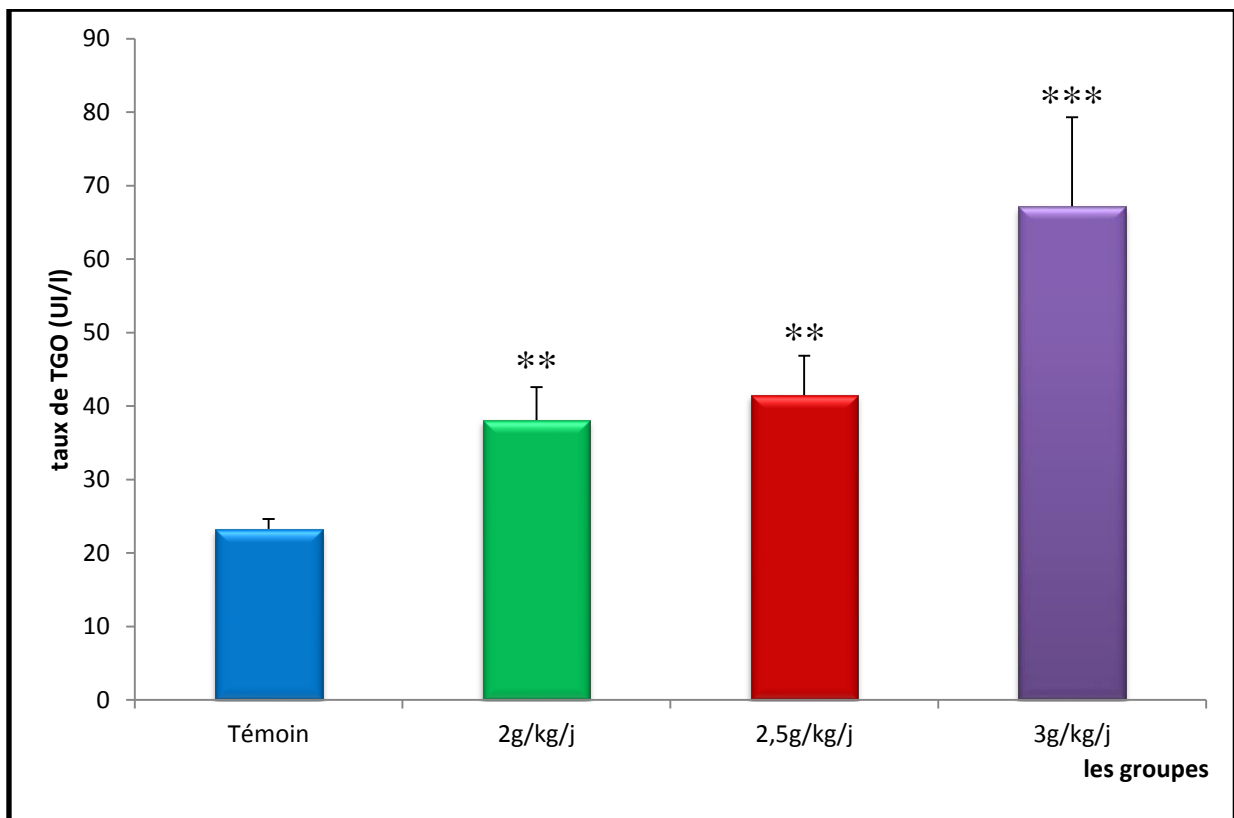


Figure 20 : Le taux de TGO des lapins de différents lots. Groupe témoin (non traité) et groupes traités avec l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). Les valeurs sont exprimées par moyenne \pm erreur standard. ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$.

IV - 5-2- Taux de TGP

En ce qui concerne le taux de TGP (fig 21), les résultats montrent une augmentation très hautement significative chez les trois groupes traités par rapport au groupe témoin

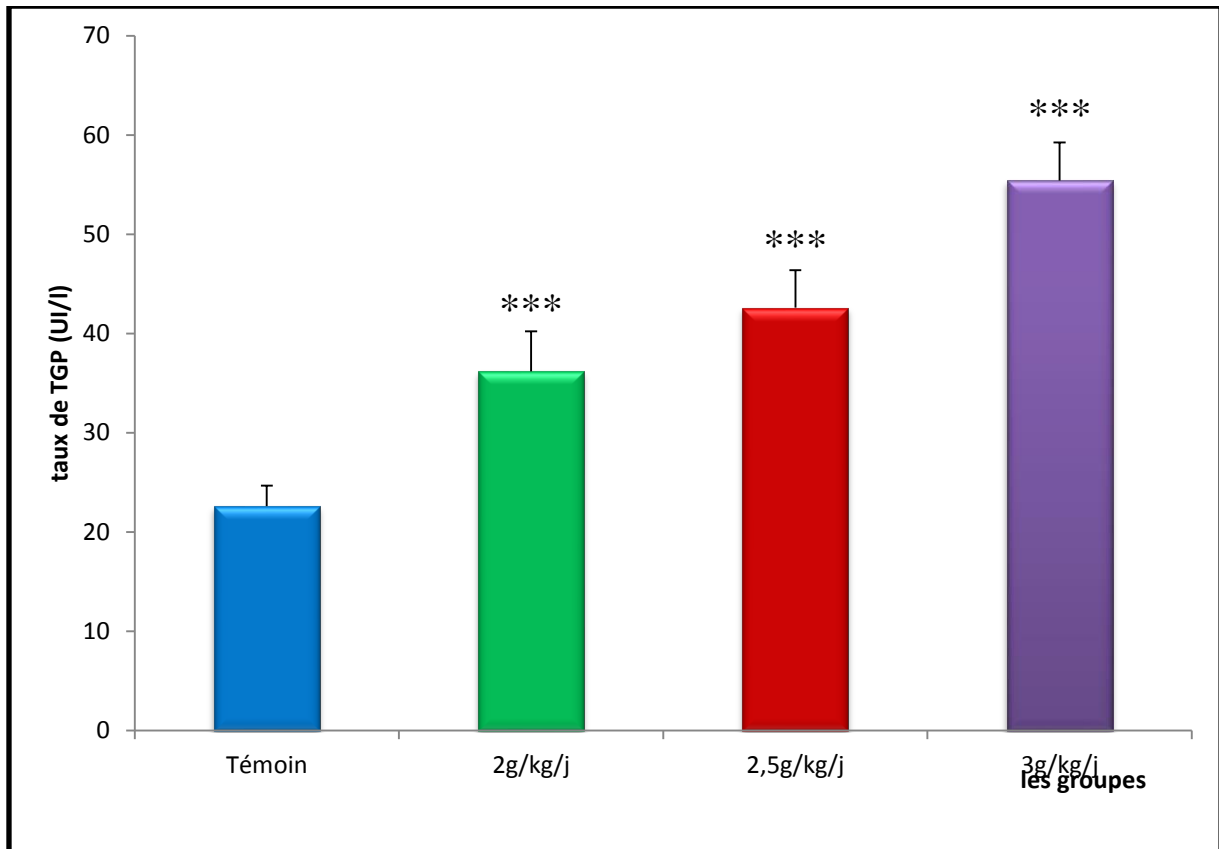


Figure 21 : Le taux de TGP des lapins de différents lots. Groupe témoin (non traité) et groupes traités avec l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). Les valeurs sont exprimées par moyenne \pm erreur standard. *** $P \leq 0,001$.

IV - 5-3- Taux d'urée

Les résultats montrés dans la figure 22 indiquent une augmentation significative du taux d'urée chez les groupes traités par 2 et 2,5 g/kg/j d'éthanol par rapport au groupe témoin, avec une augmentation hautement significative chez le groupe traité par 3g/kg/j d'éthanol comparé au groupe témoin.

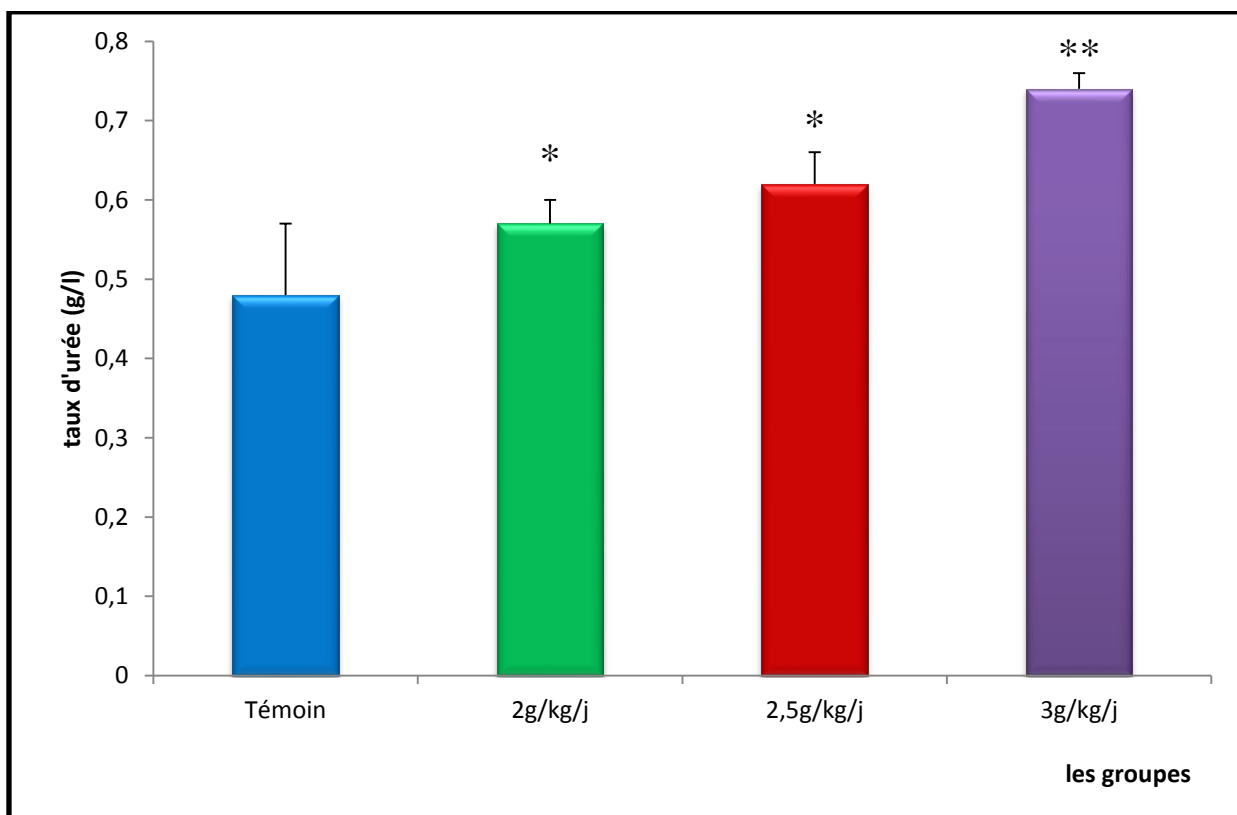


Figure 22 : Le taux d'urée des lapins de différents lots. Groupe témoin (non traité) et groupes traités avec l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). Les valeurs sont exprimées par moyenne \pm erreur standard. * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$.

IV - 5-4- Taux de créatinine

L'analyse du taux de créatinine (fig 23) révèle une augmentation hautement significative chez les lots traité avec de l'éthanol aux dose 2 g/kg/j et 2.5 g/kg/j par rapport au lot témoin, et une augmentation très hautement significative chez le lot traité avec de l'éthanol à la dose 3 g/kg/j comparé au lot témoin.

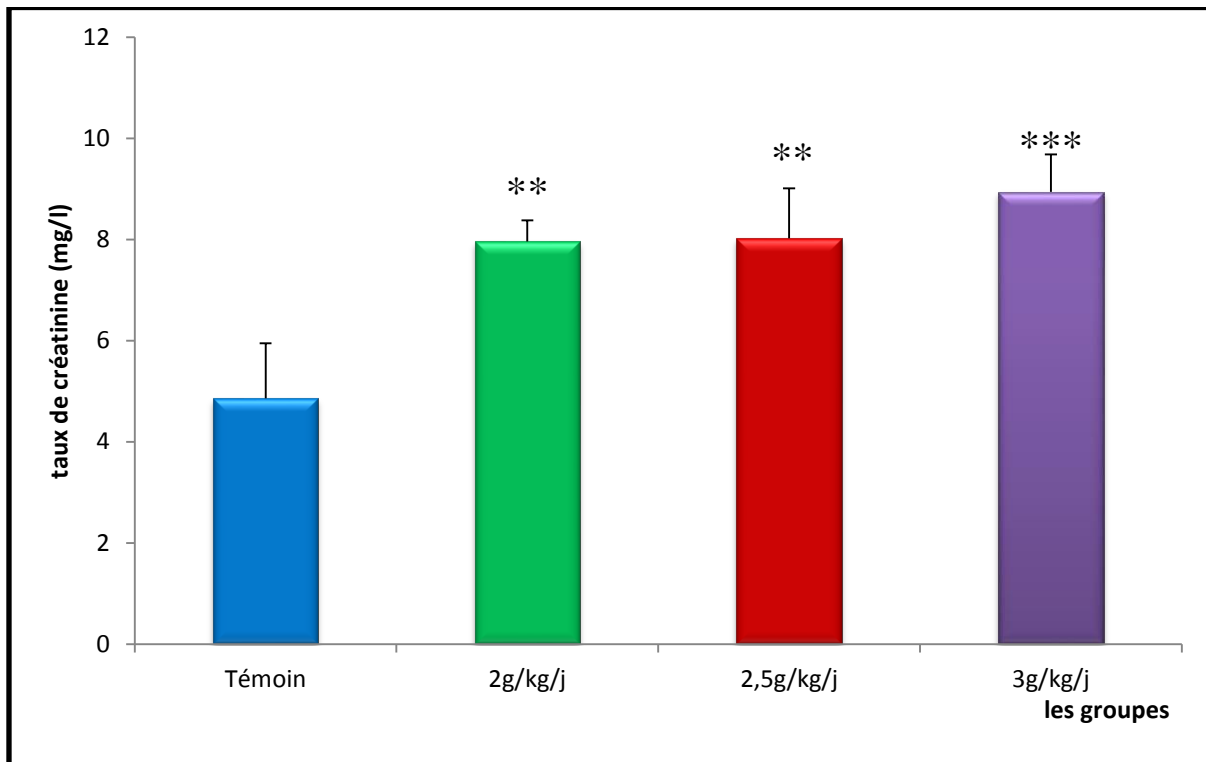


Figure 23 : Le taux de créatinine des lapins de différents lots. Groupe témoin (non traité) et groupes traités avec l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). Les valeurs sont exprimées par moyenne \pm erreur standard. ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$.

IV - 5-5- Taux du glucose

Les résultats montrés dans la figure 24 indiquent une augmentation significative du taux du glucose chez le groupe de la 3 g/kg/j d'éthanol par rapport au groupe témoin, en revanche on n'enregistre aucun changement de la glycémie chez les groupes de la dose 2 g/kg/j et 2.5 g/kg/j comparé au groupe témoin.

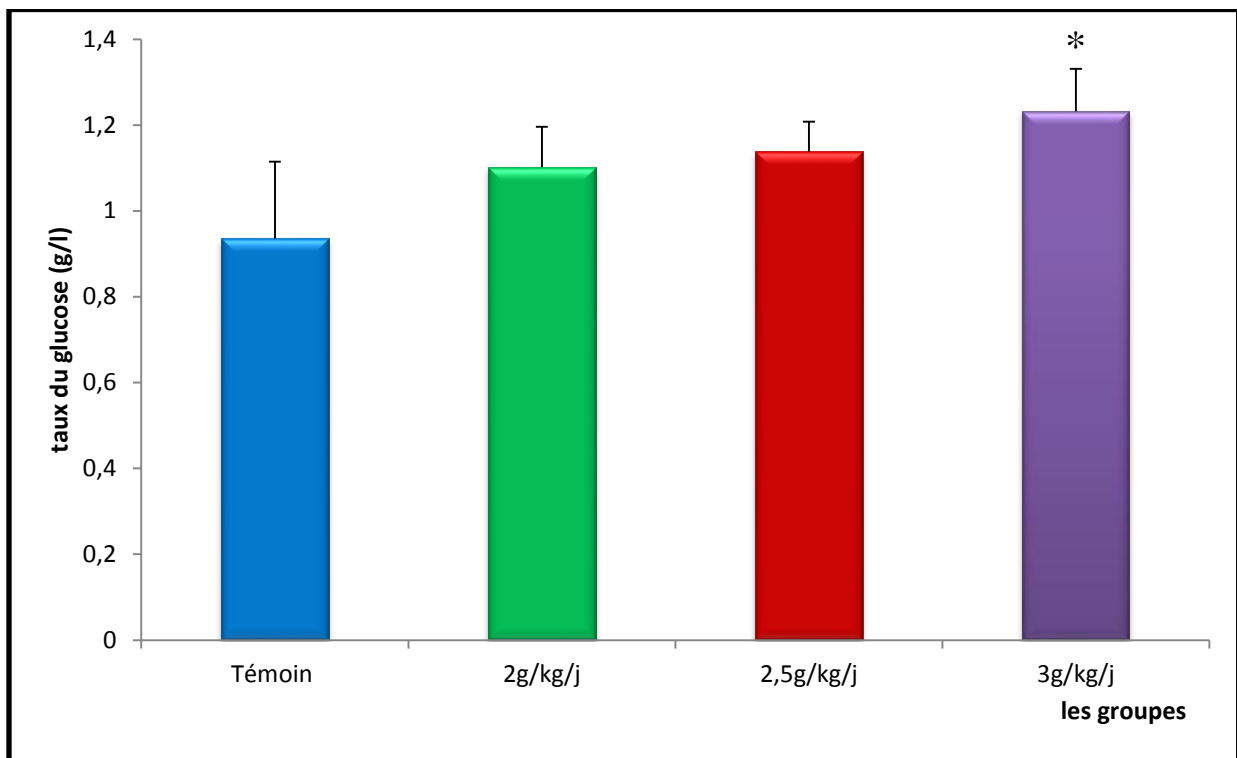


Figure 24 : Le taux du glucose des lapins de différents lots. Groupe témoin (non traité) et groupes traités avec l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). Les valeurs sont exprimées par moyenne \pm erreur standard. *P \leq 0,05

IV - 5-6- Taux des triglycérides

Les résultats obtenus dans la figure 25 montrent qu'il n'existe pas des modifications significatives du taux des triglycérides chez les groupes de la dose 2 et 2,5g/kg/j d'éthanol par rapport au groupe témoin, concernant le groupe de la dose 3g/kg/j enregistre une augmentation significative de la concentration des triglycérides comparés au groupe témoin.

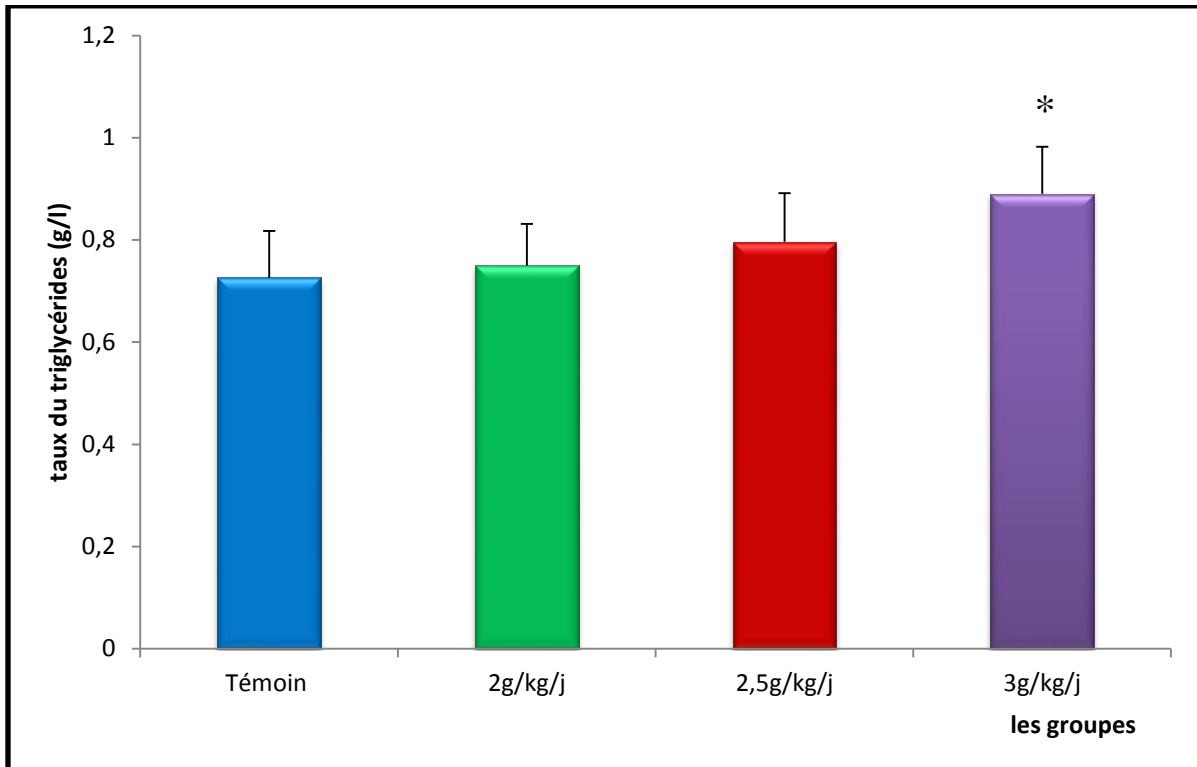


Figure 25 : Le taux des triglycérides des lapins de différents lots. Groupe témoin (non traité) et groupes traités avec l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). Les valeurs sont exprimées par moyenne \pm erreur standard. *P \leq 0,05.

IV - 5-7- Taux du cholestérol

L'analyse du taux du cholestérol (fig 26) montre une augmentation hautement significative chez les groupes traités par 2 g/kg/j et 2.5 g/kg/j d'éthanol par rapport au groupe témoin, et une augmentation très hautement significative chez le groupe traité par 3 g/kg/j d'éthanol comparé au groupe témoin.

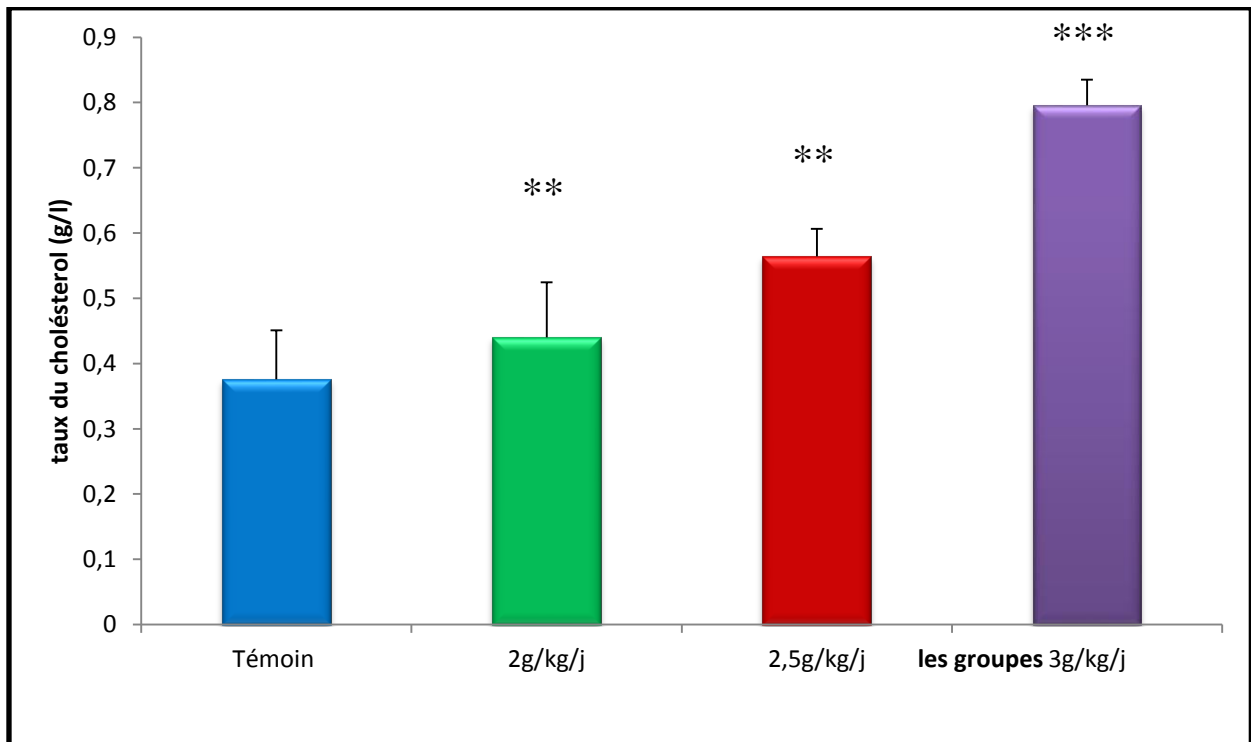


Figure 26 : Le taux du cholestérol des lapins de différents lots. Groupe témoin (non traité) et groupes traités avec l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). Les valeurs sont exprimées par moyenne \pm erreur standard. ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$.

IV - 5-8- Taux de la bilirubine

En ce qui concerne le taux de la bilirubine (fig 27) les résultats révèlent il n'existe pas des modifications significative chez tout les groupes traités par l'éthanol comparé au groupe témoin.

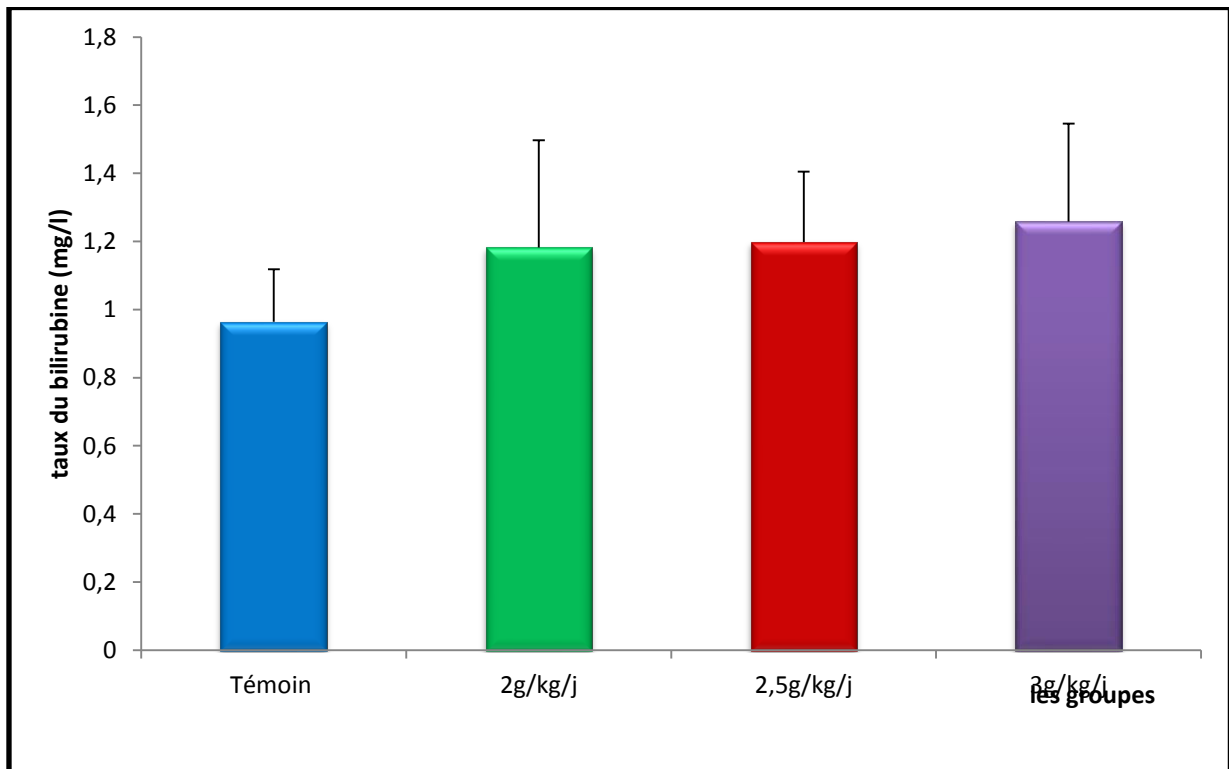


Figure 27 : Le taux de la bilirubine des lapins de différents lots. Groupe témoin (non traité) et groupes traités avec l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). Les valeurs sont exprimées par moyenne \pm erreur standard.

IV - 5-9- Taux d'albumine

Les résultats du taux d'albumine (fig 28) ne montrent aucun changement significatif chez tous les groupes traités par l'éthanol comparé au groupe témoin.

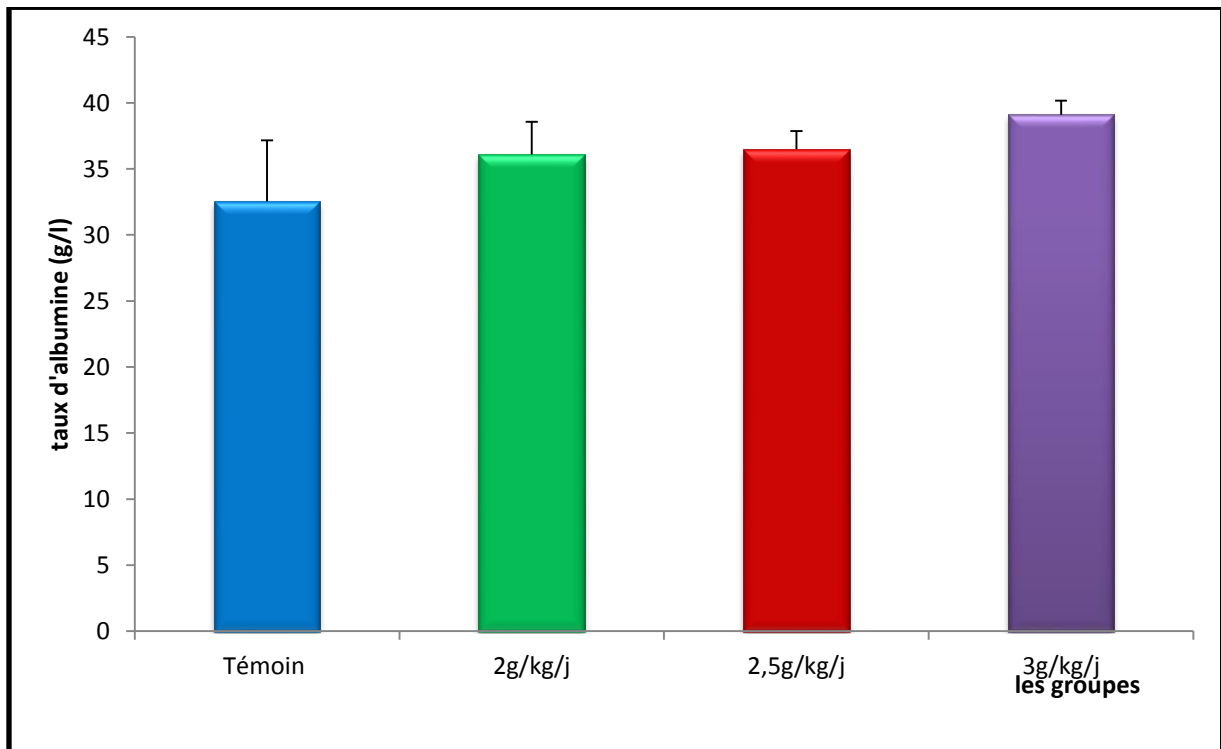


Figure 28 : Le taux d'albumine des lapins de différents lots. Groupe témoin (non traité) et groupes traités avec l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). Les valeurs sont exprimées par moyenne \pm erreur standard.

IV - 5-10- Taux des protéines totales

Les résultats montrés dans la figure 29 révèlent une augmentation non significative du taux des protéines totales chez les lapins traités par 2 et 2,5g/kg/j d'éthanol comparés aux lapins témoins, en revanche en remarque une augmentation significative des protéines totales chez les lapins de la dose 3g/kg/j d'éthanol par rapport au groupe témoin.

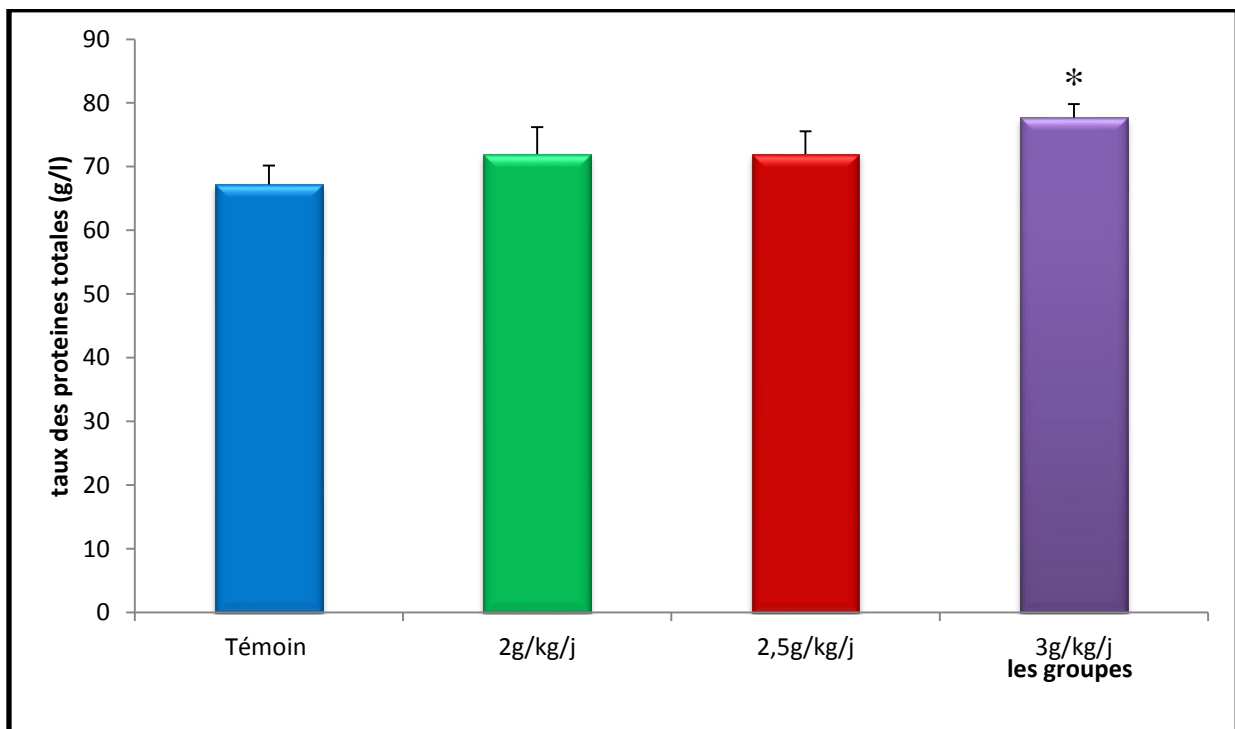


Figure 29 : Le taux des protéines totales des lapins de différents lots. Groupe témoin (non traité) et groupes traités avec l'éthanol aux doses suivantes : 2 g/kg/j, 2,5 g/kg/j et 3 g/kg/j (n=7). Les valeurs sont exprimées par moyenne \pm erreur standard. * $P \leq 0,05$.

IV- 6- Etude histologique

IV- 6- 1- Histologie des testicules

Le testicule du témoin (Fig 30 A) présente la forme normale des tubes séminifères avec les différentes couches de cellules germinales qui représentent les phases de la spermatogénèse. Chez les lapins traités par la dose 2 g/kg/j (Figure 30 B), la structure des tubes séminifères ne présente pas de modifications importantes, par contre chez les individus de la dose 2,5 g/kg/j (Figure 30 C) on remarque que les tubes commencent à avoir une forme irrégulière et la lumière (L) est plus ou moins élargie. Concernant le groupe traité par la forte dose 3g/kg/j (Figure 30 D) nous constatons une déformation sévère des tubes séminifères, une perturbation des étapes de la spermatogénèse, et l'espace de la lumière (L) est très élargie.

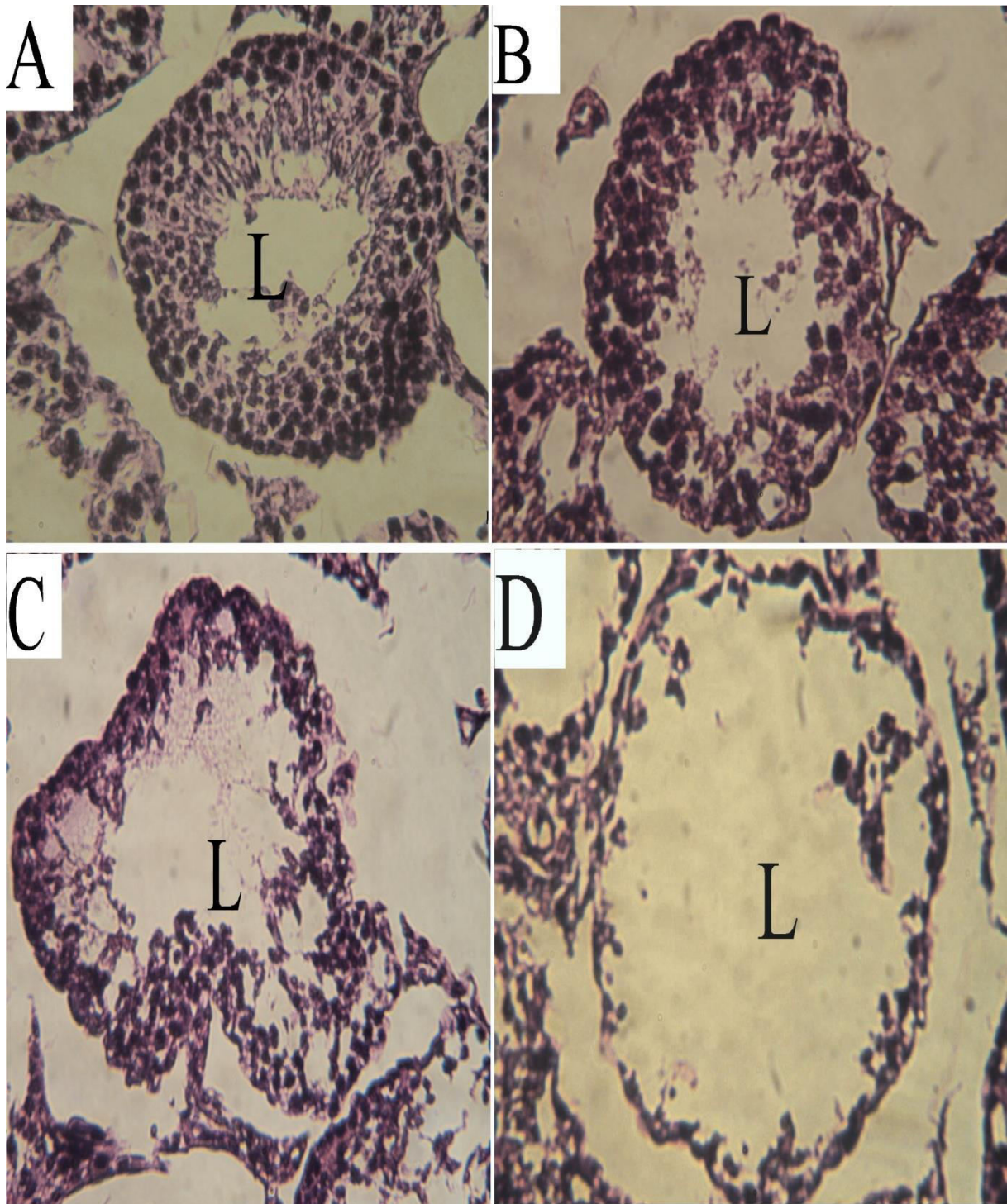


Figure 30 : Les modifications histologiques des testicules chez les lapins des différents groupes. **A)** Le testicule du lot témoin ($\times 400$) ; **B)** Le testicule du lot traité par 2g/kg/j d'éthanol ($\times 400$) ; **C)** Le testicule du groupe traité par 2,5 g/kg/j d'éthanol ($\times 400$) ; **D)** Le testicule du groupe traité par 3 g/kg/j d'éthanol ($\times 400$).

IV- 6- 2- Histologie d'épididyme

L'épididyme est un petit organe accolé au testicule, Il est composé de fins canaux enroulés prenant l'aspect d'une virgule et recouvrant la partie supérieure du testicule. Il recueille et emmagasine les spermatozoïdes venant des tubules séminifères, et il assure leur transport, ainsi qu'il les apporte les nutriments. La partie finale de l'épididyme est un lieu de conservation et stockage de spermatozoïdes mûrs, avant chaque éjaculation.

Les coupes histologiques montrent que la lumière des tubes épидидymaires du groupe témoin (Figure 31 A) est pleine des spermatozoïdes. Chez les lapins traités par la dose 2 g/kg/j (Figure 31 B), la coupe indique une diminution de nombre des spermatozoïdes au niveau de la lumière des tubes épидидymaires. Concernant les groupes traités par 2.5 g/kg/j (Figure 31 C) et 3 g/kg/j (Figure 31 D) on remarque une diminution sévère de nombre des spermatozoïdes au niveau de la lumière des tubes épидидymaires comparé au groupe témoin.

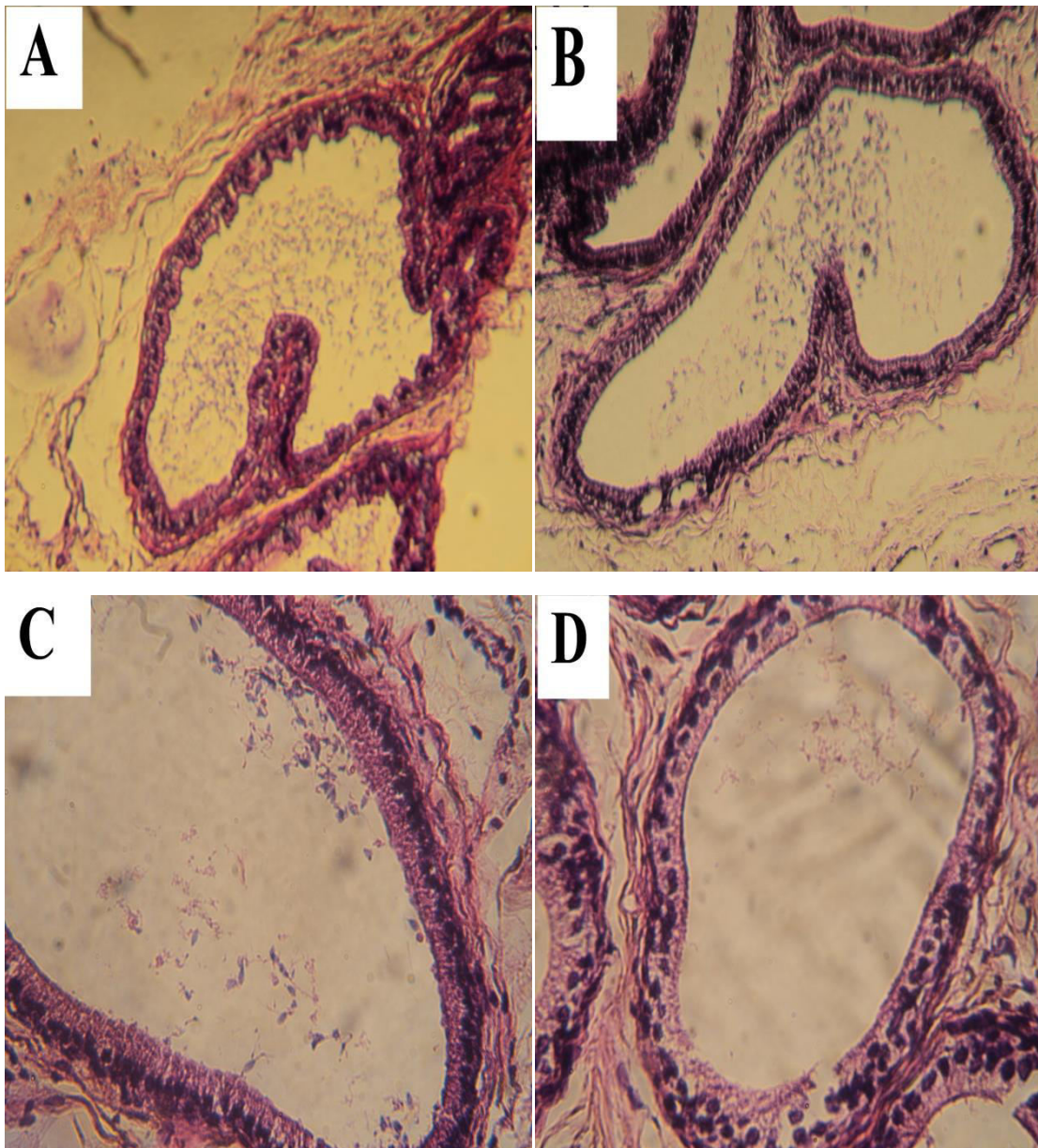


Figure 31: Les modifications histologiques d'épididyme chez les lapins des différents groupes. **A)** tube épидидymaire du lot témoin ($\times 400$) ; **B)** tube épидидymaire du lot traité par 2g/kg/j d'éthanol ($\times 400$) ; **C)** tube épидидymaire du groupe traité par 2,5 g/kg/j d'éthanol ($\times 400$) ; **D)** tube épидидymaire du groupe traité par 3 g/kg/j d'éthanol ($\times 400$).

V- discussion

La plupart des produits chimiques destinés dans le domaine industriels comme les solvants ont des effets toxiques sur les paramètres indicateurs de la fertilité masculine chez l'homme et l'animal.

Les effets des ces solvants sont hautement spécifiques sur la structure et le fonctionnement des testicules provoquant la diminution du poids testiculaire. Cette diminution est due à l'action des métabolites de ces produits sur les tissus induisant des lésions cellulaires qui vont conduire à une atrophie testiculaire (**Lee et Kinney, 1989**), soulignant que la toxicité testiculaire est de manière dose- dépendante.

Plusieurs études menées à l'échelle internationale ont confirmé l'effet reprotoxique des solvants, et ont démontré que les testicules sont des organes cibles aux produits toxiques déversés dans l'environnement. (**Samuels et al., 1984 ; Fort et al., 2001**).

L'éthanol comme exemple d'étude exerce sa toxicité par l'intermédiaire de ces métabolites. Ceux-ci sont capables de pénétrer dans le noyau des cellules et d'altérer la structure et le fonctionnement du génome régissant la croissance et le développement cellulaire. Il est connu pour son effet toxique sur la fonction de la reproduction masculine. Grâce à sa propriété amphiphile, il diffuse dans tous les tissus et affecte leurs fonctions vitales (**Lieber, 2005**).

La consommation abusive des boissons alcoolisées est l'une des causes associées à ces problèmes. Cela revient à l'éthanol contenu dans ces boissons et qui provoque une altération de la fertilité masculine, puisque il a été noté une diminution de la libido et du taux de testostérone (**Lee et al., 2010**). L'exposition aiguë et chronique à l'éthanol est associée aussi avec la diminution des taux de GnRH et de LH chez l'animal de laboratoire (**Salonen et al.,**

1992), ce qui à pour conséquence la diminution de la testostéronémie. Ces changements peuvent entraîner une hypofertilité masculine, une réduction dans les caractères sexuels secondaires, et une atrophie des testicules (**Adler, 1992**). A court terme, l'éthanol provoque la diminution du diamètre des tubes séminifères qu'est le site de la spermatogénèse (**Van thiel et al., 1974**).

Il faut noter que la cellule de Sertoli est également une cible importante de l'effet de l'éthanol qui se répercutera sur le système reproducteur. Plusieurs travaux ont montré que la consommation d'alcool de façon chronique, augmente considérablement le taux des spermatozoïdes malformés (**Pajarinen et al., 1996**). Les mécanismes de l'effet direct de l'éthanol sur la cellule de Sertoli ne sont pas encore bien élucidés. Par contre il semble que l'alcool peut endommager certaines protéines nécessaires dans la spermatogénèse (**Zhu et al., 1997**). L'alcool est aussi connu pour être une toxine des cellules de Leydig, il a un effet négatif sur la synthèse et la sécrétion de testostérone car il inhibe la stéroïdogénèse testiculaire (**Anderson et al., 1983**), ainsi qu'il provoque la déplétion des récepteurs de LH au niveau de ces cellules interstitielles (**Gnanaprakasam et al., 1979 ; Gnatt et al., 1982**).

Dans notre étude, la consommation chronique de l'éthanol aux doses utilisées a provoqué une diminution dans le poids des testicules et de l'épididyme. Nos données conformes aux celles obtenus lors de l'ingestion chronique d'alcool éthylique (**Emanuele et al., 2001**). La diminution observée est due principalement à l'effet des métabolites de ce produit sur la structure des tubes séminifères, car ils provoquent des changements dans leurs diamètres (**Martinez et al., 2009**), ainsi que l'apoptose des cellules germinales qui contribue à l'atrophie testiculaire et l'infertilité masculine (**Maneesh et al., 2005**).

De nombreuses études ont indiqué que la consommation d'alcool peut d'une part altérer la production de la testostérone (**Van thiel et al., 1974**), qui joue un rôle crucial dans le fonctionnement et la structure épидидymaire, et d'autre part dans l'atrophie des gonades par la

réduction de l'activité des testicules ce qui affecte le passage normal du fluide testiculaire vers l'épididyme (**Cooper, 1992**).

Nos résultats montrent aussi que l'éthanol provoque une diminution de la concentration des spermatozoïdes, Ces résultats sont assimilés avec les études de (**Maneesh et al., 2006**) qui ont montré que l'alcool provoque la diminution du nombre de spermatozoïdes. Ces changements sont le résultat du déclin du nombre des spermatogonies ainsi que leur activité proliférative (**Martinez et al., 2009**). Il est connu que l'IGF-I joue un rôle important dans le déroulement de la spermatogenèse par l'intermédiaire de son récepteur IGF-IR. L'éthanol induit un abaissement du nombre de récepteurs aux IGF (**Yagci et al., 2009**), ce qui affecte les mécanismes de régulation de l'IGF-I de la cellule de Sertoli entraînant une perturbation de la spermatogenèse.

Oliva et al., 2006 ont aussi observé qu'après l'exposition chronique à l'éthanol la spermatogénèse est perturbée, cette perturbation peut être due soit à la réduction de la concentration de testostérone soit à l'effet direct de l'éthanol sur les gonades.

Dans cette étude l'éthanol a provoqué la diminution de la mobilité et la vitesse des spermatozoïdes. Nos données corrélerent avec plusieurs études qui ont indiqué que la mobilité des spermatozoïdes diminue en présence d'alcool éthylique (**Martinez et al., 2009 ; Maneesh et al., 2006**). Ces résultats pourraient être l'effet direct de la toxicité de ce produit sur l'épididyme. En fait lorsque les spermatozoïdes quittent le testicule dans un état immature, ils terminent leur maturation et acquièrent une mobilité progressive au cours de leur transit à travers l'épididyme (**Bedford, 1975**). La diminution de la mobilité indique que ce produit à un effet spermato-toxique, car il augmente le nombre de spermatozoïdes avec anomalie du flagelle (**Donnelly et al., 1999**).

Concernant la vitalité des spermatozoïdes, nos résultats montrent une diminution dans le nombre des spermatozoïdes vivants, avec une augmentation du nombre de spermatozoïdes

anormaux chez les groupes traités par rapport au lot témoin. Ces résultats peuvent être la conséquence de la diminution de la concentration sanguine de FSH. Cette hormone est impliquée dans l'activation des cellules de Sertoli qui soutiennent le développement et la maturation des cellules spermatiques (**Salonen et Huhtaniemi, 1990**).

L'augmentation du nombre des spermatozoïdes malformés est une conséquence observée après une exposition à l'alcool d'une façon modérée (**Emanuele, 1998**). Comme l'éthanol altère les sécrétions épидидymaires, alors l'effet est direct sur la morphologie et la mobilité des spermatozoïdes (**Srikanth et al., 1999**). Le stress oxydant peut aussi jouer un rôle critique dans l'augmentation du nombre de spermatozoïdes malformés (**Agarwal et Saleh, 2002**). L'oxydation des lipides polyinsaturés des membranes des cellules spermatiques affecte leur fluidité ainsi que leur perméabilité membranaire, ce qui entraîne l'altération des cellules germinales et spermatiques.

La concentration de testostérone diminue chez les lapins traités par l'éthanol. Il est connu que parmi les conséquences de l'exposition chronique de ce produit est la diminution de la testostérone, il provoque le déclin de la synthèse de LH par l'hypophyse (**Widenius et al., 1989**). L'alcool éthylique affecte l'axe hypothalamus-hypophyse-gonadique chez le rat (**Van thiel et al., 1979**) par diminution de la sécrétion de GnRH (**Canteros et al., 1995**). Cela peut montrer que les actions de l'éthanol sur le système reproducteur masculin commencent au plus haut niveau, c'est-à-dire hypothalamique. De plus le déclin de la concentration de testostérone peut être le résultat de l'effet de l'éthanol sur les enzymes de la stéroïdogénèse qui se fait dans la cellule de Leydig. STAR est une protéine qui joue un rôle très important dans la régulation de la synthèse des hormones stéroïdiennes au niveau des cellules de Leydig et la glande surrénale (**Clark et Stocco, 1995**).

Kim et al., 2003 indiquent que l'administration chronique de l'éthanol inhibe l'expression du gène de STAR dans la cellule de Leydig. Par conséquent le taux de testostérone diminue avec la diminution de l'ARNm de STAR.

Nous avons tenté aussi dans le cadre de cette étude, d'évaluer l'impact de la consommation chronique d'éthanol sur la fonction hépatique.

Le foie est notre plus grand organe, et il dispose de 500 rôles différents. L'une des ces fonctions les plus importantes est l'élimination des toxines de l'organisme dont l'accumulation est particulièrement néfaste, et il est aussi le site privilégié du métabolisme de plusieurs substances y compris l'éthanol. Cette substance est largement utilisée dans l'industrie comme un solvant industriel (vernis, peinture, parfums, produits pharmaceutiques...) et présente des usages multiples en laboratoire (milieux réactionnels, extractions, cristallisation, etc.). L'intoxication par inhalation de vapeurs de ce produit ou par absorption percutanée est possible, mais c'est l'absorption exagérée de boissons alcoolisées qui est la cause essentielle de la toxicité de ce produit. Il représente un danger pour l'harmonie du fonctionnement de nombreux organes (**Fillmore, 2003 ; Frank et Witte, 2004**).

A long terme la consommation de cette substance endommage le foie, elle provoque la stéatose qui est caractérisé par l'accumulation des triglycérides et de graisse dans le foie, l'hépatite et la cirrhose. Plusieurs études indiquent que la consommation chronique d'éthanol entraîne la sécrétion de cytokines, le stress oxydatif ainsi que la peroxydation lipidique. Tous ces facteurs provoquent l'inflammation, l'apoptose et, éventuellement la fibrose des hépatocytes (**Das et al., 2003**).

Les résultats obtenus ont mis en évidence une augmentation dans le poids du foie chez les lots traités en comparaison au lot témoin. La consommation abusive d'alcool est la majeure cause des maladies hépatiques. Bien que la stéatose va se développer chez toute personne qui

consomme d'éthanol, ce processus est transitoire et réversible (**O'Shea et al., 2010**). Parmi les buveurs chroniques, seulement 15-20% développent une hépatite ou cirrhose. L'ingestion chronique de ce produit endommage le foie, par augmentation de stress oxydative et la peroxydation lipidique conduisant au dysfonctionnement hépatique (**Calivarathan et al., 2014**).

En ce qui concerne le taux des transaminases (TGO et TGP) qui sont des enzymes qui reflètent une lésion cellulaire, en particulier au niveau du foie, nous remarquons une augmentation significative et dose dépendante chez les groupes traités par rapport au groupe témoin. Ces résultats peuvent être expliqués par les effets toxiques d'éthanol sur la fonction hépatique. L'ensemble de ces perturbations sont dues à l'altération des fonctions du foie par le métabolite d'éthanol.

Plusieurs études ont montrés une diminution et dose dépendante de la concentration en glutathion des hépatocytes et de l'activité de l'UDP glucuronyl-transférase hépatique avec une diminution parallèle de l'activité de la NADPH- cytochrome réductase. (**Heinonen et Vainio, 1981**).

D'après les résultats obtenus, le traitement des lapins pendant 6 semaines a provoqué une réduction du poids des reins accompagnée d'une augmentation significative et dose dépendante du taux de l'urée et de la créatinine chez les groupes traités par rapport au groupe témoin. . Ces résultats peuvent être expliqués par les effets toxiques d'éthanol sur la fonction rénale. Différentes études montrent que ce produit est néphrotoxique (**Thurman et al., 1999**).

Les reins ont le rôle de filtre. Ils permettent d'éliminer les déchets qui proviennent du fonctionnement de l'organisme et maintiennent l'équilibre chimique du sang. Si les reins ne fonctionnent plus, ces déchets s'accumulent dans le sang et deviennent toxiques.

L'éthanol augmente l'oxydation des lipides conduisant au dysfonctionnement rénal. Il provoque la réduction de la fonction rénale par augmentation de la peroxydation lipidique et le 4-hydroxynonéal conduisant à la diminution de la filtration rénale et par conséquence l'augmentation du taux d'urée et de la créatinine (**Altamirano, 2012**).

Nos résultats ont également mis en évidence une perturbation du métabolisme physiologique, nous avons remarqué l'augmentation du taux des protéines des triglycérides et du cholestérol, chez les individus traités par l'éthanol comparé aux individus témoins. L'ensemble de ces perturbations sont dues à l'altération des fonctions du foie par l'éthanol qui peut inhiber la phosphorylation oxydative, la réplication d'ADN et l'ARN ribosomal.

Concernant l'évaluation de la toxicité hématologique, l'administration d'éthanol à entrainer une diminution des globules rouges, hémoglobine et hématocrite, avec une augmentation du nombre des plaquettes et des globules blancs.

Certaines études ont indiqué que l'éthanol est toxique pour les cellules sanguines grâce à sa propriété amphiphile, l'éthanol peut diffuser dans tous les cellules sanguines et affecte leurs fluidité membranaire par changement de la perméabilité, en augmentant la solubilité lipidique des membranes (**Gulati et al., 1985**) qui peut permettre à plusieurs xénobiotiques d'atteindre différents organes.

Les effets sur la moelle osseuse, principale manufacture des globules rouges, sont dangereux. L'éthanol a un effet gravissime sur le développement des globules rouges et peut les attaquer directement engendrant l'hémolyse.

Par ailleurs, la découverte de Gyongyi Szabo de l'université de Massachussets Medical School en 1992, révèle que l'éthanol supprime toutes les branches du système immunitaire, y compris les réponses précoces aux infections et le système de surveillances, puisque les globules blancs sont incapables de fonctionner normalement.

L'éthanol altère également la capacité des neutrophiles à migrer vers les sites présentant une lésion et une infection. En outre, il a été constaté que les humaines et animaux après administration d'alcool ont montré une altération de la production de macrophage et de cytokines.

L'exposition chronique à l'éthanol perturbe la production de différentes hormones possédant des propriétés immun-modulatrices.

Cederbaum, 2001 indique que l'exposition à l'alcool conduit à une perte de l'intégrité structural et fonctionnelle au niveau de la membrane des cellules sanguins, par augmentation de la peroxydation des lipides entraînant une modification dans le fonctionnement des protéines membranaires, ainsi que les acides nucléique et les protéines cytoplasmiques (**Moller et Wallin, 1998**).

Certaines études ont indiqué que la consommation chronique d'éthanol induit une modification de la composition de la membrane par changement dans le cholestérol, phospholipides et les acides gras ce qui provoque la modulation de la fluidité membranaire (**Berrettini et al., 2004**). Ces changements dans la fluidité de la membrane peuvent également survenir à la suite de l'interaction des radicaux libres avec les protéines et les lipides dans la bicouche. La conséquence de cette interaction est la modification de l'état physique des lipides et des protéines dans la membrane plasmique (**Borst et al., 2000**).

D'autres études ont montrés que cette toxicité est l'effet d'alcool sur les paramètres hématologiques : une hémolyse, une toxicité sur les progéniteurs myéloïdes de la moelle osseuse. Quelques travaux ont montrés que l'éthanol peut inhiber la synthèse de l'ADN et/ou entraîner des anomalies du fuseau mitotique au niveau des précurseurs médullaires.

Conclusion et perspectives

Les résultats obtenus ont montré que l'administration d'éthanol aux lapins par voies orale a provoqué des perturbations de nombreuses fonctions de l'organisme :

- une altération des paramètres de la fertilité masculine (spermatotoxicité, atrophie testiculaire et atteinte hormonale).
- une hématotoxicité traduite par la diminution dans le taux d'hémoglobine, globules rouges, hématocrite avec une augmentation du nombre des globules blancs et des plaquettes.
- une perturbation dans le taux des paramètres biochimiques (urée, créatinine, TGO, TGP, bilirubine, albumine, protéines totaux, cholestérol, triglycérides)

A partir de ces résultats, il serait important de dégager les perspectives suivantes :

- étude de l'effet du produit sur les facteurs hypothalamo-hypophysaires impliqués dans le déroulement de la spermatogénèse.
- compléter l'étude des effets génotoxiques d'éthanol.
- s'intéresser à la caractérisation de la toxicité du produit chez l'homme à travers la réalisation des enquêtes épidémiologiques dans les milieux professionnels.

Les références:

A

- 1- Adachi J., Mizoi Y., Fukunaga T., Ogama Y., Veno Y., Imamichi H., Degrees of alcohol intoxication in 117 hospitalized cases, *J. Stud. Alcohol*, 1991, 52 (5): 448-453.
- 2- Adler R.A., Clinically important effects of alcohol on endocrine function, *Clin. Endocrinol. Metab.*, 1992, 74, 957-960.
- 3- Agarwal A., Saleh R.A.: Role of oxidants in male infertility. *Urol. Clin. North Am.*, 2002, 29: 817-827.
- 4- Altamirano J., *Clin. Gastroenterol.*, 2012, 10:65.
- 5- Anderson R.A., Willis B.R., Oswald C., Zaneveld L.J.D., Male reproductive tract sensitivity to ethanol: a critical overview. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1983, 18: 305-310.
- 6- Anonyme, Alcoholic liver disease: morphological manifestations, Review by an International group, *Lancet*, 1981, 1: 707-711.
- 7- Association Nationale de Prévention de l'Alcoolisme. Consommation d'alcool dans le monde. Statistiques 2000-2001 de l'ANPA, 2002 : 3.

B

- 1- Becker K., Guen T., Seiwert M., Conrad A., Pick-Fuss H., Geres IV: Phthalate metabolites and bisphenol A in urine of German children. *Int J. Hyg. Environ. Health.*, 2009, 212 : 685-692

- 2- Bedford J.M.: Maturation, transport and fate of spermatozoa in the epididymis. *In: HAMILTON & GREEP (éd.), Handbook of Physiology: Male Reproductive System, Washington, 1975, 303–317.*
- 3- Bergmyer and Horder, *Clin. Chem., acta.*, 1980, 105-147.
- 4- Berrettini M., D. Fedeli, G. Falcioni, C. Bevilacqua, M. Massi and C. *Toxicol.*, 2004, 199: 161–168.
- 5- Biyik, Ergene, alcohol and acute myocardial infarction. *J. int. med. Res.*, 2007, 35(1): 46-51.
- 6- Bogomolova E.N., Bukeshov M.K., Bogomolov D.V., Le diagnostic médico-légal de l'intoxication d'alcool substitués par les constatations morphologiques, *Sudebno-meditsinskaia ekspertiza*, 2004, 47 (5): 22-25.
- 7- Borst J.W., Visser N.V., Kouptsova O., Visser A.J.W.G, *Biochim. Biophys. Acta*, 2000, 14 (87): 61–73.
- 8- Brown D.J., The pharmacokinetics of alcohol excretion in human perspiration. *Exptl. Clin. Pharmacol.*, 1985, 7 : 539-544.
- 9- Brent J., Fomépirole pour l'éthylène glycol et de l'empoisonnement au méthanol, *Engl. J. Med.*, 2009, 360 (21): 2216-2223.
- 10- Bunc M., Pezdir T., Mozina H., Mozina M., Brvar M., Ingestion butanol dans un hangar d'aéroport, *Toxicol. hum et expérimental.*, 2006, 25 (4): 195-197.
- 11- Burtis, tietz textbook of clinical chemistry, 3rd ed AACC, 1999.

- 1-Calivarathan L., Laura E.N., Thomas M. M., Chronic ethanol ingestion induces oxidative kidney injury through taurine-inhibitable inflammation, *Free Radic. Biol. Med.*, 2014, 8: 403-416.
- 2- Canteros M.G., Franchi A.M., Suburo A., Genaro A., Cebal E., Rettori V.: Ethanol mechanism(s) of action on LHRH secretion. *Acta. Physiol. Pharmacol. Ther. Latinoam.*, 1995, 45: 55–63.
- 3- Cederbaum, Alcohol, oxidative stress, and cell injury, *Free Radic. Biol. Med.*, 2001, 31: 1524–1526.
- 4- Charnley S.B., Kress M.E., Tielens A.G., Millar T.J., Alcools Interstellar, *Astrophysical J.*, 1995, 44 (8): 232-238.
- 5- CIRC: Centre international de recherche sur le cancer, 1988.
- 6- Clark B.J., Stocco D.M.: Expression of the STAR: a novel LH-induced mitochondrial protein required for the acute regulation of steroidogenesis in mouse Leydig tumor cells. *Endocr. Res.* 1995, 21: 243–257.
- 7- Claudio A., Faúndez , José O., Valderrama, Activity Coefficient Models to Describe Vapor-Liquid Equilibrium in Ternary Hydro-Alcoholic Solutions , *Chinese J. of Chem. Engi.*, 2009, 17(2): 259-267 .
- 8- Conso F., Migné C., Monoalcools autres que l'alcool éthylique, *Encycl. Méd. Chir* (Elsevier, Paris), Toxicologie-Pathologie Professionnelle 16-047-25 : 1997, 9p.
- 9- Cooper T.G.: The Epididymis as a Site of Contraceptive Attack. *In: SPRINGER (éd.): Spermatogenesis Fertilization, Contraception, Berlin, 1992, 419-460.*

10- Cordier S., Ayotte P., De Wals P., Ducot B., Dodin S., Saurel-Cubizolles M.J. and Thoneau P., Environnement et santé publique. Fondements et pratiques reproduction, Paris: edisem inc., Tec & Doc, 2003, p. 641-667.

11- Corrao G., Arico S., Zambon A., Torchio P., Di orio F., Female sex and the risk of liver Cirrhosis, Collaborative Groups for the Study of Liver Diseases in Italy, *Scand. J. Gastroenterol.*, 1997, 32 : 1174-1180.

D

1- Das S.K., Nayak P., Vasudevan D.M., Biochemical markers for alcohol consumption, *Ind. J. of Clin. Biochem.* , 2003, 18: 111-118.

2- Davies K.J.A., Goldberg A.L., Proteins damaged by oxygen radicals are rapidly degraded in extracts of red blood cells. *J. Biol. Chem.*, 1987, 262: 8227-8234.

3- Dean R.T., Hunt J.V., Grant A.J., Yamamoto Y., Niki E., Free radical damage to proteins: the influence of the relative localization of radical generation, antioxidants, and target proteins. *Free Rad. Biol. Med.*, 1991, 11: 161-168.

4- Demanet J.C., Bonnyns M., Bleiberg H., Stevens-Rocmans C., Coma due to water intoxication in beer drinkers. *Lancet*, 1971, 2: 1115-1117.

5- Di Padova C., Worner T.M., Julkunen R.J., Lieber C.S., Effects of fasting and chronic alcohol consumption on the first-pass metabolism of ethanol, *Gastroenterol. J.*, 1987, 92 : 1169-1173.

6- Donnelly G.P., McClure N., Kennedy M.S., Lewis S.E.M.: Direct effect of alcohol on the motility and morphology of human spermatozoa. *Andrologia J.*, 1999, 31: 43-47.

7-Drevius L., Eriksson H., osmotic swelling of mammalian spermatozoa, *Exp. Cell res.*, 1966, 42: 136- 156.

8- Drupt F., dosage d'albumine sérique par le vert de bromocrésol, *pharm.biol.*, 1974, 9 :777.

9- Ducluzeau R., Meyran S., Intoxication par monoalcools : alcool éthylique, alcool isopropylique, alcool butylique. In Danel V., Barriot P., Les intoxications aiguës, Paris, Arnette, 1993, 139-158.

É

1- Emanuele M.A., Emanuele N.: Alcohol and male reproductive system. *Alcohol Res. Heal.*, 2001, 25: 282-287.

2- Emanuele M.A., Tentler J., Halloran M.M., Emanuele N.V., Wallock L., Kelley M.R.: The effect of acute in vivo ethanol exposure on follicle stimulating hormone transcription and translation. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 1992, 16: 776–780.

3- Emanuele N.: Reversal of ethanol-induced testosterone suppression in peripubertal male rats by opiate blockade. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 1998, 22: 1199–1204.

F

1- Fillmore M.T., *Neuroscience Reviews*, 2003, 2: 179–197.

2- Fort D.J., Stover E.L., Bantle J.A., Dumont J.N., Finch R.A., evaluation of a reproductive toxicity assay using *Xenopus laevis*: boric acid, cadmium and EGME. *J. appl. Toxicol.*, 2001, 21 (1): 41-52.

3- Frank J., Witte K., Schrodler W., *Alcoh. and Alcoholi.*, 2004, 39: 386–392.

G

- 1- Gnanaprakasam M.S., Chen C.J.H., Sutherland J.G., Bhalla V.K.: Receptor depletion and replenishment processes: in vivo regulation of gonadotropin receptors by luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and ethanol in rat testis. *Biol. Reprod.*, 1979, 20: 991–1000.
- 2- Gnatt P.A., Tho P.T., Bhalla V.K., Mcdonough P.G., Costoff A., Mahesh V.B.: Effect of ethanol-containing liquid diet upon gonadotropin receptor depletion in rat testis. *Pharmacol. Exp. Ther.*, 1982, 223: 848-853.
- 3- Grant M.W., toxicology of the eye. 3eme éd., spring field: Charles C. Thomas, 1986, 53-59.
- 4- Goist K.C., Sutker P.B., Acute alcohol intoxication and body composition in women and men. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1985, 22 : 811–814.
- 5- Gulati A., Chandishawar N., Shanker K., effect of alcohols on the permeability of blood-brain barrier, *pharmacol. Res.*, 1985, 17: 85-93.
- 6- Szabo G., Monocyte-Mediated Immunodepression after Acute Ethanol Exposure, *Adv. in Bioscie.*, 1992, 86: 121-130.

H

- 1- Heinonen T., et Vainio H., dose dependante toxicity of alcohol in rat. *Eur. J. drug. Metab.*, 1981, 6: 275-280.
- 2- Hills B.W., Venable H.L., the interaction of ethyl alcohol and industrial chemicals. *Am. J. of ind. Med.*, 1982, 3: 321-333.

3- Hori H., Fujii W., Hatanaka Y., Suwa Y., Effets de l'huile de fusel sur des modèles animaux gueule, *L'alcoolisme, la recherche clinique et expérimentale*, 2003, 27 (8): 37-41.

J

1- Iimuro Y., Gallucci R.M., Luster M.I., Kono H., Thurman R.G., Antibodies to tumor necrosis factor alfa attenuate hepatic necrosis and inflammation caused by chronic exposure to ethanol in the rat. *Hepatology*, 1997, 26 : 1530-1537.

2- **INRS**: institut national de la recherche et de la santé, 2005.

3- **INRS**: institut national de la recherche et de la santé, 2007.

4- **INRS**: institut national de la recherche et de la santé, 2009.

5- **INRS**: institut national de la recherche et de la santé, 2011.

6- **INSEREM**: Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, 1993.

L

1-Jeyendran R.S., Vander J.J., Perez M., Crabo B.G., Zaneveld L.J.D., development of an assay to assess the functional integrity of human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics, *j. reprod. Fert.*, 1984, 70:219-228.

2-Jones A.W., Jönsson K.A., Food-induced lowering of blood ethanol profiles and increased rate of elimination immediately after a meal. *J. Forensic Sci.*, 1994 , 39 : 1084-1093.

3- Jones A.W., Hahn R., Stalberg H.P., Distribution of ethanol and mater between plasma an whole blood, inter and intra individual variations after administration of ethanol by intravenous infusion. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1990, 50: 775–780.

4- Jones A.W., Hahn R., Stalberg H.P., Pharmacokinetics of ethanol in plasma and whole blood, estimation of total body water by the dilution principle. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 1992, 15 : 147-160.

K

1- kaplan A., urea, clin chem the C.V., mosby co. st Louis, Toronto, 1984, 1257-1260.

2- Kim J.H., Kim H.J., Noh H.S., Roh G.S., Kang S.S., Cho G.J., Park S.K., Lee B.J., Choi W.S.: Suppression by ethanol of male reproductive activity. *Brain Res.*, 2003, 989: 91-98.

3- Kono H., Wheeler M.D., Rusyn I., Lin M., Seabra V., Gender differences in early alcohol-induced liver injury : role of CD14, NF-kappaB, and TNF-alpha. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2000, 278: 652-661.

L

1- Lachenmeier D.W., Haupt S., Schulz K., Définition des niveaux maximal d'alcools supérieurs dans les boissons alcoolisées et des produits de l'alcool de substitution, *pharmacol. Toxicol. Rég.*, 2008, **50** (3): 313-321.

2- Lands W.E.M., A review of alcohol clearance in humans. *Alcohol J.*, 1998 ; 15 : 147-160.

- 3- Lauwerys R., Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles, Masson Ed (3^{ème} édition), 1990 ; 341-347.
- 4- Lee Y.H., Naseer M.I., Lee S.H., Kim M.O., Time-dependent effect of ethanol on GnRH and GnRH receptor mRNA expression in hypothalamus and testis of adult and pubertal rats. *Neurosci. Lett.*, 2010, 471: 25–29.
- 5- Lee K.P., Kinney L.A., the ultrastructure and reversibility of testicular atrophy induced by EGME in the rat, *toxicol. Pathol.*, 1989, 17 (4): 759-773.
- 6- Lieber C.S.: Metabolism of alcohol. *Clin. Liver Dis.*, 2005, 9, 673–702.
- 7- Lieber CS, De Carli LM. Ethanol oxydation by hepatic microsomes adaptive increase after ethanol feeding. *Science*, 1999, 162 : 917–918.
- 8- Lim R.T., Gentry R.T., Ito D., Yokohama H., Baraona E., Lieber C.S., First-pass metabolism of ethanol is predominantly gastric. *Alcohol Exp. Res.*, 1993, 17 : 1337- 1344.
- 9- Litwak G.: biochemistry of hormones: steroid hormones. *In: text book of biochemistry with clinical correlation*, WILEY & SONS (éd). 1992.
- 10- Lobert S., L'éthanol, l'isopropanol, méthanol, l'éthylène glycol et l'empoisonnement, *infirmière en soins intensifs*, 2000, 20 (6):. 41-47.
- 11- Lodgsdon J.E., Éthanol, *Encyclopedia of Chemical Technology*, 9 (4e éd.). New York: John Wiley & Sons, 1994, p. 820.

M

- 1- Majerza I., Natkaniec I., Spectres expérimentaux et théoriques IR, R, et de l'INS de 2,2,4,4-tétraméthyl-3-t-butyl-pentane-3-ol, *J. of Mole. Str.*, 2006, 788 (3) : 93-101.
- 2- Maneesh M., Jayalekshmi H., Dutta S., Chakrabarti A., Vasudevan D.M.: Role of oxidative stress in ethanol induced germ cell apoptosis. *Indian J. Clinic. Biochem.*, 2005, 20: 62–67.
- 3- Maneesh M., Dutta S., Chakrabarti A., Vasudevan D.M.: Alcohol abuse-duration dependent decrease in plasma testosterone and antioxidants in males. *Indian J. Physiol. Pharmacol.*, 2006, 50 : 291–296.
- 4- Mankowski W., Klimaszyk D., Krupinski B., Comment différencier une intoxication aiguë par l'isopropanol par intoxication à l'éthanol - un rapport de cas, *Przegląd lekarski*, 2000, 57 (10): 588-590.
- 5- Martinez M., Macera S., Assis G.F., Pinheiro P.F., Almeida C.C., Tirapelli L.F.: Structural evaluation of the effects of chronic ethanol ingestion on the testis of *Calomys callosus*. *Tis.Cell*, 2009, 41 : 199–205.
- 6- Martojar. & Martoja M.: initiation aux techniques de l'histologie animale, éd. MASSON & CIE, 1967, p 346.
- 7- McKee M., Suzcs S., Sarvary A., Adany R., Kiryanov N., Saburova L., Tomkins S., Andreev E., La composition des alcools de substitution consommés en Russie, *L'alcoolisme, la recherche clinique et expérimentale*, 2005, 29 (10): 1884-1888.
- 8- Mezey E., Kolman C.J., Diehl A.M., Mitchell M.C., Herlong H.F., Alcohol and dietary intake in the development of chronic pancreatitis and liver disease in alcoholism. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1988, 48 : 148-151.
- 9- Moller P., Wallin H., *Mutat. Res.*, 1998, 410: 271–279.
- 10- Murray R. L., creatinine, *clin chem the C.V.*, mosby co. st Louis, Toronto, 1984, 1261-1266 and 437 and 418.

N

- 1- Naito H.K., cholesterol. In Kaplan A et al. clin. Chem. The CV mosby Co, st Louis, Toronto, Princeton, 1984, 1194-1206 et 437.
- 2- Nordmann R., Ribiere C., Rouach H., Implication of free radical mechanisms in ethanol-induced cellular injury, *Free Rad. Biol. Med.*, 1992, 12 : 219 -240.

O

- 1- Oliva S.U., Messias A.G., Silva D.A., Pereira O.C., Gerardin D.C., Kempinas W.G. : Impairment of adult male reproductive function in rats exposed to ethanol since puberty. *Reprod Toxicol.*, 2006, 22 : 599–605.
- 2- O.M.S. (Organisation Mondiale de la Santé) : Analyse du sperme humain et de l'interaction des spermatozoïdes avec le mucus cervical, éd. INSERM, 1993, 55-56
- 3- O'Shea R.S., Dasarathy S., McCullough A.J., *Alcoholic liver disease*, 2010, 51: 307–328.

P

- 1- Pajarinen J., Karhunen P.J., Savolainen V., Lalu K., Penttila A., Laippala P.: Moderate alcohol consumption and disorders of human spermatogenesis. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 1996, 20: 332–337.

2- Pastino G M., Asgharian B., Roberts K., Medinsky M. A., Bond J., A comparison of physiologically based pharmacokinetic model predictions and experimental data for inhaled ethanol in male and female B6C3F1 mice, F344 rats and humans. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1997, 145: 147–157.

3- Peterson JB, Rothfleisch J, Zelazo PDV et al. Acute alcohol intoxication and cognitive functioning. *J Stud. Alcohol*, 1990, 51 : 114-122.

4- Pilière F., Conso F., BIOTOX, Guide bio-toxicologique pour les médecins du travail. ED 791. I.N.R.S, 30 Rue Olivier Noyer, 75680 Paris Cedex 14 (2ème édition), 1997, 157p.

R

1- Remmer H., Kessler W., Einsele H., Hintze T.H., diaz de toranzo G., Ethanol promotes oxygen-radical attack on proteins but not on lipids. *Drug. Metab. Rev.* 1989, 20 : 219-232.

2- Robert S., Comparaison de la toxicité létale aiguë de substances psychoactives couramment maltraités, 2004, 99 (6): 99- 102.

3- Robert H., Perry , Donald W., Green, *Perry's Chemical Engineers' Handbook*, USA, McGraw-Hill, 7e éd., 1997, p. 2400.

S

1- Salonen I., Huhtaniemi I.: Effects of chronic ethanol diet on pituitary-testicular function of the rat. *Biol. Reprod.*, 1990, 42: 55–62.

- 2- Salonen I., Pakarinen P., Huhtaniemi I.: Effect of chronic ethanol diet in expression of gonadotropin genes in the male rat. *Pharmacol. Exp. Ther.*, 1992, 260: 463–467.
- 3- Samuels D.M., Doe J.E., Tinston D.J., the effects on the rat testis of single inhalation exposures to EGME, *Arch. Toxicol. Suppl.*, 1984, 7: 167- 170.
- 3- Sharma S.C., Chaudhury R.R., Studies on mating. The effect of ethanol on sperm transport and ovulation in successfully mated rabbits, *Indian J. Med. Res.*, 1970, 58: 501.
- 4- Schep L.J., Slaughter R.J., Empoisonnement au diéthylène, *Clin. Toxicol. (Phila)*, 2009, 47 (6): 525-535.
- 5- Srikanth V., Malini T., Arunakaran J., Govindarajulu P., Balasubramanian K.: Effects of ethanol on epididymal secretory products and sperm maturation in albino rats, *Pharmacol. Exp. Ther.*, 1999, 288: 509–515.
- 6- Stewart SH, Finn PR, Pihl RO. A dose-response study of the effects of alcohol on the perceptions of pain and discomfort due to electric shock in men at high familial genetic risk for alcoholism. *Psycho.pharmacol.*, 1995, 119 : 261–267.
- 7- Swerdloff R.S., Overstreet J.W., Rajfer J., Sokol R.Z.: Infertility in the male. *Ann. Intern. med.*, 1985, 103 : 906-919.

J

- 1- Tempelhoff G., Tempelhoff C., L'ivresse alcoolique aiguë au Service d'Accueil des Urgences, Étude multicentrique, *Réan. Urg.* 1992, 13 (2) : 640-644.

2- Thomas M, Halsall J, Peters JJ. Role of hepatic acetaldehyde deshydrogenase in alcoholism : demonstration of persistent reduction of cytosolic activity in abstaining patients. *Lancet* 1982, 2 : 1057-1059.

3- Thurman R.G., Bradford B.U., Iimuro Y., Frankenberg M.V., Knecht K.T., Connor H.D., Adachi Y., Wall C., Arteel G.E., Raieigh J.A., Forman D.T. , R.P. Mason, *Front. in Biosci.*, 1999, 4: 42–46.

U

1- Uchida K., Role of reactive aldehyde in cardiovascular diseases. *Free Rad. Biol. Med.*, 2000, 28: 1685-1696.

V

1- Vale A., Méthanol, 2007 ; 633-634.

2- Van thiel D.H., Gavaler J.S., Cobb C.F., Sherins R.J., Lester R.: Alcohol-induced testicular atrophy in the adult male rat. *Endocrinology*, 1979, 105: 888-895.

3- Van Thiel D.H., Lester R., Sherins R.J.: Hypogonadism in alcoholic liver disease: Evidence for a double defect. *Gastroentero.*, 1974, 67: 1188–1199.

4- Van Thiel D.H., Gavaler J.S., lester R., alcohol induced ovarian failure in the rat. *j clin invest.*1978 ; 61(3) :624- 632.

W

- 1- Wagner J.G., Properties of the michaelis-menten equation and its integrated form which are useful pharmacokinetics. *J. Pharmacokinet. biopharm.*, 1973, 1:103–121.
- 2- Widenius T.V., Eriksson C.J., Ylikahri R.H., Harkonen M.: Inhibition of testosterone synthesis by ethanol: role of luteinizing hormone. *Alcohol*, 1989, 6: 241–244.
- 3- Widwark E.M.P., Die theoretischen Grundlagen und die praktische verwendbarkeit der gerichtlichmedizinischen alkoholbestimmung, Berlin & Wien : Urban & Schwarzenberg, 1932.
- 4- Wiernikowski A., Piekoszewski W., Krzyzanowska-Kierepka E., Gomulka E., Intoxication aiguë par voie orale avec de l'alcool isopropylique chez les alcooliques, *Przegląd lekarski*, 1997, 54 (6): 459-463.
- 5- wilcoshy, tyroler, mortality from heart diseases among workers exposed to solvents. *j. occup. Med.*, 1983, 52: 879-885.
- 6- William R., Alcools, VirtualText de chimie organique, 2007.
- 7- Woo K.L., Détermination des alcools de faible poids moléculaire, y compris l'huile de fusel dans les divers échantillons par extraction d'éther diéthylique et chromatographie en phase gazeuse, *Journal de l'AOAC International*, 2005, 88 (5): 1419-1427.

Y

- 1- Yagci A., Yakisik M., Altunbas K., Zik B.: Investigation on the effect of chronic ethanol consumption on IGF-I receptors in rat testes during puberty period by immunohistochemical method. *Revue Méd. Vét.*, 2009, 160, 127-132.

Z

- 1- Zimmerman S.E., Burkhart K.K., Donovan J.W., L'éthylène glycol et de l'empoisonnement au méthanol: diagnostic et traitement, *Revue d'urgence de soins infirmiers*, 1999, 25 (2): 116-20.

- 2- Zhu Q., Van Thiel D.H., Gavaler J.S.: Effects of ethanol on rat Sertoli cell function: Studies in vitro and in vivo. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 1997, 21: 1409–1417.