

EFFETS NOCICEPTIFS DU BENZENE SUR LE POTENTIEL REPRODUCTEUR DE LA RATTE GESTANTE WISTAR

Reçu le 07/03/2005 – Accepté le 05/04/2008

Résumé

Les résultats obtenus ont montré que l'administration per os de benzène aux doses, 50, 100 et 150 mg/kg de poids corporel chez les rattes femelles gestantes Wistar, provoque une toxicité hématologique importante illustrée par l'augmentation des globules rouges, accompagnée d'une élévation hautement significative de l'hémoglobine et l'hématocrite chez les lots traités à 100 et à 150 mg/kg de poids corporel.

Les résultats mettent évidence le potentiel détoxifiant par la diminution du taux de GSH hépatique ; l'organisme répond à cette agression par la variation pondérale et l'apparition de manière dose – dépendante, de lésions tissulaires importantes au niveau du foie, de la rate et des reins. La toxicité du benzène affecte le développement embryonnaire par la réduction du taux de fertilité et par l'augmentation de l'embryoléthalié. Enfin, le benzène induit de manière significative une diminution du poids foetal et de la taille du squelette.

Mots clés : Benzène, administration per os, toxicité hématologique, potentiel détoxifiant, atteintes tissulaires, effets tératogènes.

Abstract

The results showed that the administration *per bone* of benzene to the amounts of 50, 100 and 150 mg/kg of body weight, at gestating rattes Wistar, causes an hematologic and tissue toxicity significantly illustrated at the batch treated with the two most important amounts. The result have also showed a reduction of hepatic GSH, associated with a ponderal variation and important tissue lesions on the level of the liver, spleen and the kidney.

The toxicity of benzene affects the embryonic developpement by the reduction of the fertility and by the increase of the embryoletality. Finally, the benzene significantly induces a reduction in the weight foetus and size of the skeleton.

Keywords: benzene, oral administration, hematologic toxicity, detoxification, tissue attacks, teratogenic effects.

F. SAKRAOUI¹
N. BOUZIDI¹
A. BOUAKKAZ²
K. OUALI²
M. A. GUELLATI²
A. K. TAHRAOUI²
N. BOUZERNA³

¹Département de biologie, centre universitaire d'El Tarf

²Laboratoire de biologie animale appliquée ; Département de biologie, université Badji Mokhtar. Annaba

³Département de biochimie, université Badji Mokhtar. Annaba

ملخص

أظهرت النتائج المحصل عليها أن معالجة الفئران الحوامل بمادة البنزين بجرعات متفاوتة 100,50 و 150 ماغ/كغ من الوزن البدني يؤدي إلى تسمم دموي نتيجة ارتفاع عدد كريات الدم الحمراء, مصحوبا بارتفاع كبير في الهيموغلوبين و الهيماتوكريت عند الفئة المعالجة بالجرعات 100,50 و 150 ماغ/كغ من الوزن البدني. و أظهرت النتائج أيضا الطاقة التأكسدية بانخفاض مستوى الغلوتاثيون الكبدي. يرد الجسم على هذه المادة السامة باضطرابات في الوزن و ظهور تضررات نسيجية على مستوى الكبد و الطحال و الكليتين, و ذلك كلما كانت الجرعة أكبر. و يؤثر البنزين على التطور الجنيني و ذلك بانخفاض القدرة على الإخصاب و زيادة الوفيات الجنينية مع العلم أنه يؤدي أيضا إلى نقص متباين في وزن الجنين و نمو الهيكل.

الكلمات المفتاحية : البنزين, تسمم دموي, القدرة التأكسدية, التطور الجنيني.

Le benzène est un xénobiotique qui occupe une place privilégiée en se distinguant par une nocivité particulièrement importante sur l'environnement et la santé publique [1; 2; 3; 4]. De nombreuses études indiquent que le benzène est métabolisé essentiellement au niveau du foie, mais aussi au niveau d'autres tissus riches en lipides notamment la moelle osseuse [5; 6; 7]. Le benzène peut stimuler son propre métabolisme et augmenter par conséquent le taux de formation de métabolites toxiques [8; 9; 10]. L'absorption de ce xénobiotique constitue une agression chimique pouvant s'exprimer à court terme, moyen ou long terme par des lésions plus au moins réparées, des déficiences ou des maladies aiguës ou chroniques [11; 12]. L'organisme développant une stratégie adaptative qui s'illustre par la production de radicaux libres dont les effets sont proportionnels à l'intensité et à la durée de leur production.

L'impact nociceptif du benzène sur la fonction de reproduction et de développement embryonnaire a fait l'objet de travaux qui restent, cependant, très insuffisants. Pourtant, le benzène est largement utilisé dans des lieux de travail de femmes en âge de procréer [13]. En revanche, le transfert placentaire du benzène lors de la grossesse a été prouvé [14; 15]. Sa concentration dans le sang du cordon chez le nouveau né s'est avérée au moins égale à celle de la mère exposée au produit [16; 17]. Ces effets correspondent à une diminution du poids fœtal et de la taille du squelette [18; 19; 8]. Cependant, les effets du benzène sur la reproduction [20] et le développement [21; 22] ne sont pas suffisants pour établir la relation cause à effet. Dans ce contexte, notre problématique tend à mettre en évidence les retombées d'une agression chimique par le benzène au cours de la gestation. L'étude qui en découle vise à évaluer la toxicité, l'atteinte hématologique, l'activité hormonale, l'état pondéral et l'atteinte tissulaire des organes métabolique, immunitaire et excréteur et les effets tératogènes.

MATERIEL ET METHODES

Le modèle biologique utilisé est le rat femelle albinos wistar (institut pasteur, Alger). Les animaux sont soumis à une photopériode naturelle (12h/12h), à une humidité de 70% et à une température ambiante (21 ± 1). Les rats ont bénéficié d'une alimentation spécialisée (bâtonnets constitués de maïs, d'orge et de lait) et d'un approvisionnement journalier en eau. Après accouplement, 36 ratte gestantes ont réparties en 4 lots à raison de 9 ratte gestantes par lot : un lot témoin et des lots traités au benzène à raison de 50, 100 et 150 mg/kg de poids corporel.

Le traitement consiste à mélanger le benzène dans de l'huile d'olive (V/V), et de l'administrer par voie de gavage une fois par jour tous les trois jours du premier au 15^{ème} jour de gestation. Les prélèvements d'organes et de sang ont été effectués au 20^{ème} jour. Nous avons prélevé et pesé les organes (foie, rate et rein), nous les avons ensuite conservé pour la réalisation de l'étude histologique selon le

protocole décrit in Martoja et Martoja (1967) [23]. Le dosage du glutathion hépatique (GSH) est basé sur la technique de Weckbeker et Cory (1988) [24]. Les prélèvements sanguins ont été effectués au 12^{ème} et au 20^{ème} jour de gestation. Le sang est récolté sur EDTA pour le dosage hormonal (HCG, oestrogènes) et sur lames pour les frottis sanguins. Les prélèvements des embryons s'effectuent par section au niveau de l'utérus et nous permettent de calculer les taux de fertilité et d'embryoléthalié. Les résultats obtenus sont comparés par le test t de Student et par l'analyse de la variance à deux critères.

RESULTATS

1. Evaluation de la toxicité du benzène

Les résultats obtenus indiquent une diminution significative du taux de glutathion au 12^{ème} jour de gestation, chez le lot traité à la dose intermédiaire. Au terme de la gestation, cette diminution s'accroît particulièrement chez le lot traité à la dose la plus importante (Tab. 1).

Tableau 1 : Variation du taux de glutathion hépatique au 12^{ème} et au 20^{ème} jour de gestation entre lot témoin et les lots traités au benzène à raison de 50, 100 et 150 mg/kg

Lots	témoin	50mg/Kg	100mg/Kg	150mg/Kg
12 ^{ème} jour (n=3)	18.05 ± 6.82 ^a	14.41 ± 0.78	4.66 ± 0.75*	17.65 ± 3.51
20 ^{ème} jour (n=6)	16.26 ± 3.72 ^a	18.63 ± 4.92	15.97 ± 1.24	10.05 ± 2.04**

*: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$; a: anova à un facteur – dose- $p < 0.001$

2. Evaluation de l'atteinte hématologique

Les résultats révèlent une augmentation significative des taux moyen de globules rouges, d'hématocrite et d'hémoglobine chez les lots traités aux deux doses les plus importantes et ceci au 20^{ème} jour de gestation. En revanche, on constate une diminution significative du taux moyen de thrombocytes chez le lot traité à 150 mg/kg (Tab. 2).

Tableau 2 : Variation du taux de globules rouges, plaquettes, hémoglobine, et hémocrite entre lot témoin et les lots traités au benzène à raison de 50, 100 et 150 mg/kg

Lots	témoin	50 mg/Kg	100 mg/Kg	150 mg/Kg
20ème jour (M/ μ l) GR	6.366 $\pm$ 0.178	5.773 $\pm$ 1.346 n.s	8.54 $\pm$ 0.930 *	8.396 $\pm$ 0.924 *
20ème jour (K/ μ l) Plaquettes	886.7 $\pm$ 128.7	1019 $\pm$ 12.5 n.s	708.3 $\pm$ 102.6 n.s	523 $\pm$ 54*
20ème jour (g/dl) HB	11.867 $\pm$ 0.208	11.43 $\pm$ 2.65 n.s	14.83 $\pm$ 0.577 ***	15.43 $\pm$ 0.351 ***
20ème jour (%) HM	34.033 $\pm$ 0.586	33.57 $\pm$ 7.54 n.s	47.97 $\pm$ 1.90 ***	50.13 $\pm$ 5.13 **

** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$

3. Evaluation de l'atteinte tissulaire

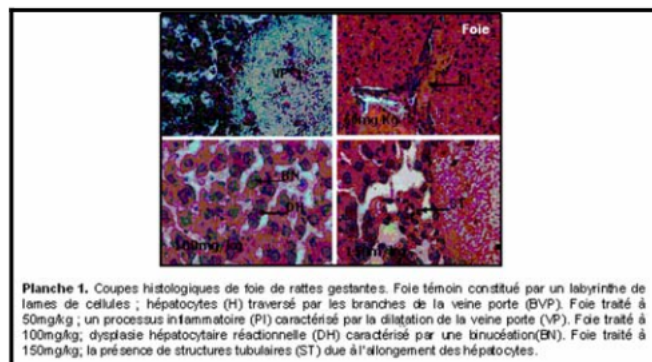
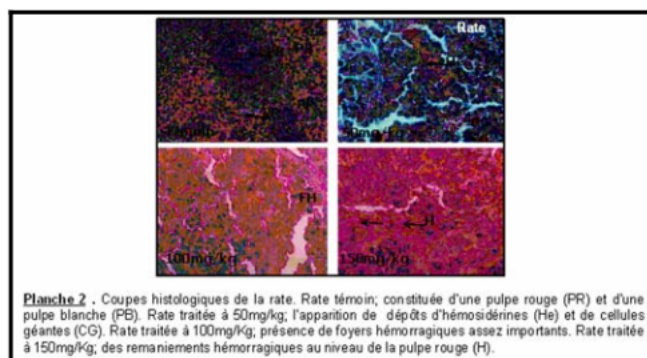
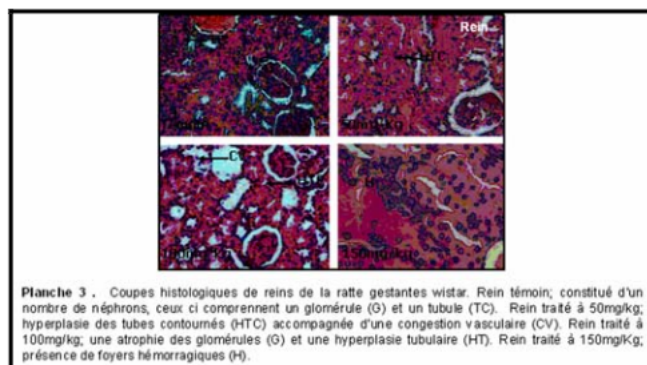
Concernant l'état pondéral des organes, on constate globalement une perturbation importante au niveau du poids des différents organes analysés (Tab. 3).

Tableau 3 : Variation de l'état pondéral des organes métabolique, immunitaire et excréteur entre lot témoin et les lots traités au benzène à raison de 50, 100 et 150 mg/kg

Lots	témoin	50 mg/Kg	100 mg/Kg	150 mg/Kg
Foie	3.79 $\pm$ 0.26	4.4 $\pm$ 0.71	5.25 $\pm$ 0.99 *	5.61 $\pm$ 1.05 **
Rate	0.22 $\pm$ 0.03	0.25 $\pm$ 0.02	0.34 $\pm$ 0.04 ***	0.38 $\pm$ 0.03 ***
Reins	0.5 $\pm$ 0.07	0.62 $\pm$ 0.09 *	0.68 $\pm$ 0.06 **	0.8 $\pm$ 0.05 ***

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$

Concernant l'histopathologie du benzène, on constate des lésions importantes qui s'expriment de façon dose – dépendante au niveau du foie (Planche. 1), de la rate (Planche. 2) et du rein (Planche. 3).

**Planche 1.** Coupes histologiques de foie de ratte gestante. Foie témoin constitué par un labyrinthe de lames de cellules ; hépatocytes (H) traversés par les branches de la veine porte (BVP). Foie traité à 50mg/kg ; un processus inflammatoire (PI) caractérisé par la dilatation de la veine porte (VP). Foie traité à 100mg/kg ; dysplasie hépatocytaire réactionnelle (DH) caractérisée par une binucléation (BN). Foie traité à 150mg/kg ; la présence de structures tubulaires (ST) due à l'allongement des hépatocytes.**Planche 2.** Coupes histologiques de la rate. Rate témoin ; constituée d'une pulpe rouge (PR) et d'une pulpe blanche (PB). Rate traitée à 50mg/kg ; l'apparition de dépôts d'hémossidérines (He) et de cellules géantes (CG). Rate traitée à 100mg/kg ; présence de foyers hémorragiques assez importants. Rate traitée à 150mg/kg ; des remaniements hémorragiques au niveau de la pulpe rouge (H).**Planche 3.** Coupes histologiques de reins de la ratte gestante wistar. Rein témoin ; constitué d'un nombre de néphrons, ceux-ci comprennent un glomérule (G) et un tubule (TC). Rein traité à 50mg/kg ; hyperplasie des tubes contournés (HTC) accompagnée d'une congestion vasculaire (CV). Rein traité à 100mg/kg ; une atrophie des glomérules (G) et une hyperplasie tubulaire (HT). Rein traité à 150mg/kg ; présence de foyers hémorragiques (H).

4. Evaluation de l'activité hormonale

L'analyse de l'hormone chorionique gonadotrope au cours de la gestation signale une augmentation très significative des niveaux plasmatiques de base au 12^{ème} jour, en dehors de tout traitement. En revanche, l'administration de benzène fait chuter les taux plasmatiques d'HCG (Tab. 4).

Tableau 4 : Variation des taux plasmatiques d'HCG et d'oestrogènes entre lot témoin et les lots traités au benzène à raison de 50, 100 et 150 mg/kg

Lots	témoin	50mg/Kg	100mg/Kg	150mg/Kg
HCG(j12)	496,42 $\pm$ 93,79	124,80 $\pm$ 49,97	253,68 $\pm$ 19,99 *	112,52 $\pm$ 49,61 *
HCG (j18)	135,20 $\pm$ 48,78	101,92 $\pm$ 55,71	99,84 $\pm$ 15,77	41,60 $\pm$ 37,78 *
Oestrogènes j0	18.70 $\pm$ 1.15a	18.70 $\pm$ 1.15a	18.70 $\pm$ 1.15n.s	18.70 $\pm$ 1.15a
Oestrogènes j12	37.41 $\pm$ 2.67	37.59 $\pm$ 2.69 n.s	25.23 $\pm$ 8.66*	28.15 $\pm$ 6.41 n.s
Oestrogènes j18	41.65 $\pm$ 7.13	44.74 $\pm$ 15.28	31.24 $\pm$ 11.22*	33.72 $\pm$ 7.15

* : $p < 0.05$; a : anova à un facteur – temps de gestation- $p < 0.001$

L'analyse des oestrogènes au cours de la gestation signale une augmentation significative du taux d'oestradiol et ceci en dehors de tout traitement. En revanche l'administration de benzène semble perturber ce taux particulièrement chez le groupe traité à la dose intermédiaire (Tab. 5).

Tableau 5 : Comparaison des paramètres de reproduction et de développement embryonnaire entre lot témoin et les lots traités au benzène à raison de 50, 100 et 150 mg/kg

Lots	témoin	50 mg/Kg	100 mg/Kg	150 mg/Kg
fertilité	0.291 ± 0.067	0.161 ± 0.11 **	0.076 ± 0.08 **	0.078 ± 0.10 **
embryo	00.00 ± 00.00	0.034 ± 0.077 n.s	0.088 ± 0.097 n.s	0.114 ± 0.088 n.s
Poids foetal	3.999 ± 0.750	2.871 ± 1.762 n.s	2.491 ± 0.887 *	0.3983 ± 0.079 ***
Taille du squelette	3.875 ± 0.255	3.277 ± 1.128 n.s	3.018 ± 0.655 *	1.498 ± 0.0172 ***

*: p<0.05; **: p<0.01; ***: p<0.001

5. Evaluation des effets tératogènes

Le calcul du taux moyen de fertilité révèle une diminution très significative chez l'ensemble des lots traité par rapport au lot témoin. Il en résulte une augmentation de l'embryoléthalité moyenne et ceci de manière dose – dépendante.

Concernant l'état pondéral des fœtus, les résultats montrent une diminution chez l'ensemble des lots traités, celle-ci étant plus marquée chez les deux lots traités aux doses les plus importantes (Tab. 6). Les résultats révèlent également un retard de croissance du squelette foetal chez les lots traités à 100 et à 150 mg/kg.

DISCUSSION

Il semble que l'organisme d'un être vivant répond à de faibles concentrations de benzène contenues dans l'air atmosphérique par une réaction d'augmentation de la méthémoglobine, une augmentation du glutathion sous sa forme réduite (GSH) et une élévation du glucose 6 phosphate deshydrogénase, et le plus important, une augmentation de l'activité méthémoglobine réductase [25 ; 26]. Devant ce type de toxicité, le foie développe également une activité enzymatique intense en vue d'éliminer les agents toxiques et leurs dérivés, la concentration du cytochrome P450 y est très élevée [27]. Il convient de noter que le métabolisme hépatique du benzène est responsable de la détoxification à travers la formation de l'ethral sulfate et du glutathion conjugué [28 ; 29].

La diminution de l'activité glutathion associée à une perturbation pondérale du foie s'explique par le fait qu'une faible concentration de GSH ne permet pas de protéger le tissu contre les métabolites toxiques et qu'une diminution

de GSH dans un organe provoque des lésions tissulaires [30]. Ces travaux semblent conforter l'histopathologie du benzène observée au niveau hépatique, splénique et rénal, dans le cadre de cette étude. Des travaux supplémentaires réalisées par voie d'ingestion chez le rat, la souris et le lapin, ont révélé que l'administration de fortes doses de benzène et de monochlorobenzène entraînait une hépatotoxicité et une néphrotoxicité, indiquées par une augmentation de la teneur en enzymes sériques, de la masse du foie et des reins et de l'incidence des modifications histopathologiques et des nécroses [31 ; 32].

CONCLUSION

Ces résultats confirment l'hépatomégalie, la splénomégalie et l'augmentation pondérale des reins, dans notre cas, chez les lots traités aux doses les plus importantes. Ce phénomène s'explique également au niveau histologique par les congestions vasculaires que nous avons observé, associées à d'importants remaniements au niveau des organes étudiés, conduisant à un état hyperplasique. Ce qui en accord avec les commentaires de Valasco et al. [33]. De nombreux travaux ont montré que les signaux hormonaux liés à la reproduction sont transmis de l'hypothalamus et de l'hypophyse aux glandes génitales, et au placenta dont les sécrétions oestroprogestatives concourent à assurer les segments fertilité, implantation embryonnaire et gestation [34]. La régulation est soumise à des interactions avec d'autres systèmes tels que le système immunitaire et des influences exogènes. Il a été bien démontré dans notre cas que la forte agression perturbe la sécrétion de l'HCG et d'oestrogènes et fait diminuer leur taux.

L'étude de l'impact du benzène sur les caractères tératologiques (poids des fœtus, malformations internes ou externes) illustre une réduction du taux de fertilité associée à une augmentation significative de l'embryoléthalité. Les résultats révèlent également une diminution importante du poids et de la taille du squelette foetal et ceci pour l'ensemble des lots traités. Ces résultat caractérisent l'effet tératogène du benzène [35].

REFERENCES

- [1]- US EPA(IRIS) (2003a)- Benzene – reference Concentration for Chronic Inhalation Exposure (RfC). U.S. Environmental Protection Agency-Integrated Risk Information System. <http://www.epa.gov/ngispgm3/iris/>.
- [2]- Medinsky, M.A., Schlosser., P.M. and Bond, J.A.(1994) Critical issues in benzene toxicity and metabolism: the effect of interactions with other organic chemichals on risk assessment. *Environmental Health Perspectives*, 102: 119-124.
- [3]- Barbara, N., Bulla, G., and Romano, G. (1998). "A Fatal Case of Benzene Poisoning." *J Forensic Sci.* 43 (6), 1250-1251 .

- [4]- Bisson. M., Bureau. J., Hulot. C., Lefaivre. J. P., Leveque. S., Magaud. H., Pichard. A., Dujardin. R., et Villey. C. (2000) – Benzène. Fiche des données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Document INERIS.
- [5]- ATSDR (1997) – Toxicological profile for benzen, Agency for toxic substances and diseases registry. Atlanta. Georgia. USA.
- [6]- CE (2001) – Benzène. Evaluation des risques dans le cadre du règlement. Commission européenne 793 – 93, sur les substances existantes (projet 8, mai 2001).
- [7]- Lauwerys R.R. (1999)- Benzene. Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. Paris. Masson.
- [8]- Rothman N., Li G-L., Dosemeci M., Bechtold W.E., Marti G.E., Wang Y-Z *et al.*, (1996b) – Hematotoxicity among Chinese workers heavily exposed to benzene. *Am. J Ind Med.* 29, 3. 236-246.
- [9]- Saillenfait A.M., Gllissot F., Morel G., Bonnet P. 2003- Developmental toxicities of ethylbenzene, ortho-, meta-, para-xylene and technical xylene in rats following inhalation exposure. *Fod Chem Toxicol.* 41(3): 415-29.
- [10]- Wright A.P. et Coll.- Une revue de littérature récente sur la toxicology du benzene . Bruxelles, European Chemical Industry Ecology& Toxicology Centre, rapport technique n° 16, décembre 1984 (traduction française réalisée par Chimie et Ecologie. Paris, juin 1987).
- [11]- Gist G. L. and Burg. J. R. (1997) – Benzene – a review of the literature from a health effect perspective. *Toxicol ind health.* 13, 6 : 327 – 332.
- [12]- Goldstein B. D., et Shalat. S. L. (2000) – the causel relation between benzene exposure and multiple myeloma. *Courrier des lecteurs. Blood Vol.* 95: 1512 – 1513.
- [13]- Saillenfait A.M., Payan J.P., Langonne L., Gllissot F., Sabate J.P., Beydon D., Fabry J.P. 1999- Assessment of the developmental toxicity and placental transfert of 1,2- diethylbenzene in rats . *Food Chem Toxicol* 37(11): 1089-96.
- [14]- Dowty. B.J., Laseter. J. L., Storer. J (1976) – The transplacental migration and accumulation in blood of volatil organic constituents peditates. *10* : 696 – 701.
- [15]- Goldman L.R., Paigen B. and Magnant M.M. (1985) - Low birth weight prematurity and birth defects in children living near the hazardous waste site, Love canal. *Hazardous Waste and Hazardous Materials*, 2, 209-223.
- [16]- Goldman. J., Laskey. J. (1988)- The development of a protocol to assess reproduction effects of toxicants in rat report- *Toxicol*, 2: 287.
- [17]- Green J.D., Leong B.K. and Laskin S. (1978) - Inhaled benzene fetotoxicity in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 46, 1, 9-18.
- [18]- Tatrai E., Rodies K. and Ungvary G. (1980a)- Embryotoxic effects of simultaneously applied exposure of benzene and toluene. *Folia Morphol (Praha)*, 28, 3, 286-289.
- [19]- Tatrai E., Ungvary G., Hudak A., Rodies K., Lorinez M. and Bareza G. (1980b)- Concentrationdependence of embryotoxic effects of benzene inhalation in CFY rats. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol*, 24, 3, 286-289.
- [20]- Yoshida S., Sagai M., Oshio S., Umeda T., Ihara T., Sugamata M., Sugawara I., Takada K. 1999. Exposure to diesel exhaust affects the male reproductive system of mice. *Int. J. Androl.* 22, 307-315.
- [21]- Ungvary G. and Tatrai E. (1985)- On the embryotoxic effects of benzene and its alkyl derivatives in mice, rats and rabbits. *Arch Toxicol Suppl*, 8, 425-430.
- [22]- Goldman. I. R., Palgen. B., and Magnant. M. M.(1985) – Low birth weight prematurity and birth defects in children living near the hazardouswaste site, love canal. *Hazardous waste and hazardous materials.* 2: 209 – 223.
- [23]- Martoja R. et Martoja M. (1967) : Initiation aux techniques de l'histologie animale. Masson et Cie (eds).
- [24]- Weeckbeker G. and Cory J.G. Ribonucleotide reductase activity abd growth of glutathione- depleted mouse leukemia L 1210 cells in vitro . *Cancer Lettres*, 40, 257-264, 1988.
- [25]- Bairi. A, Saka. S., et Guellati. M. A. (2000) – Capacités de détoxification du GSH dans un environnement nociceptif, relation immuno – corticotrope. *L'eurobiologiste.* pp. 248 – 249.
- [26]- Valentine J.L., Lee S.S.T., Seaton M.J., Asgharian B., Farris G., Corton J.C., Gonzalez F.j. and Medinsky M.A. (1996)- Reduction of benzene metabolism and toxicity in mice that lack CYP2E1 expression . *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 141, 1, 205-213.

- [27]- El Farra. M, et Saka. S. (1999) – The role of glutathione reductase in living cell protection from toxic effect of lipid peroxydes arising from heated oils. *Comptes rendus de l'académie bulgare des sciences*. 50 : 1 – 11.
- [28]- El Farra. M., Saka. S., Guellati. M. A., et Bouzerna. N.(2000) – The role of glutathione in the detoxification of lipid peroxides arising from heated oils. *Comptes rendus de l'académie bulgare des sciences*. 53 : 91 – 94.
- [29]- Hsieh L. L., Liou. S. H., Chiu. L. L., Chen Y. H. (1999)- Glutathione S transferase (GST) M1 and GSTT1 genotype and hematopietic effects of benzene exposure. *Arch Toxicol*. 73 (2) : 80 – 82.
- [30]- LCPE (loi canadienne sur la protection de l'environnement) (1992) – Chlorobenzène. Rapport d'évaluation N°3. Canadian environmental protection . Act. Pp. 01 – 20.
- [31]- Cooper. K. R., Kindt. V., Snyder. R. (1984) – correlation of benzene metabolism and histological lesions in rainbow trout drug. *Metab Rev.* 15 (4): 673 – 696.
- [32]- LCPE (loi canadienne sur la protection de l'environnement) (1992) – Chlorobenzène. Rapport d'évaluation N° 3. Act. Pp. 1 – 20.
- [33]- Velasco L. R., Brera. E. E., Munoz. T. A., Tapia Aguilar. A., Gonzalez. R. C., Gonzalez. L. M. , Ortiz. M. V., Betancourt. R. M. (2001) – Model for the induction of aplastic anemia by subcutaneous administration of benzene from active and passive smoking. *Arch. Environ. Health*. 42: 272 – 279.
- [34]- Routledge E.J., Sumpter J.P. 1997. Structural features of alkylphenolic chemicals associated with estrogenic activity. *J. Biol. Chem*. 272, 3280-3288.
- [35]- Brown – Woodman P. D., Webster. W. S., Picker K., Hug. F. (1994) – In vitro assesment of individual and interactive effects of aromatic hydrocarbons on embryonic developpement of the rat. *ReprodToxicol*. 8 (2): 121 – 135.

