

**ETUDE DE L'INFLUENCE DES PESTICIDES CARBAMINES
SUR L'INDUCTION DES ENZYMES HEPATIQUES DU RAT
ET SUR LES MODIFICATIONS DES PHOSPHOLIPIDES
MICROSOMEAUX**

*Jacques Mountié¹, Freddy Rivera², Hervé Goudonnet¹,
André Escousse¹ et Roger-Charles Truchot¹*

**Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques,
Université de Dijon, Dijon-Cedex, France**

INTRODUCTION

Les produits phytosanitaires dont les succès sont remarquables dans le domaine de la production et de la conservation des produits agroalimentaires peuvent présenter des inconvénients liés à leur utilisation à grande échelle.

Les pesticides à structure carbamine: carbaryl, aldicarbe, manèbe, nabame, zinèbe sont actuellement très utilisés comme insecticides, fongicides ou herbicides. Ces composés et leurs catabolites se retrouvent en définitive dispersés dans tout l'environnement et notamment dans les tissus végétaux et animaux destinés à l'alimentation d l'homme. Or un certain nombre de pesticides à

Manuscrito modificado recibido: 2-7-82.

- 1 Laboratoire de Biochimie Pharmaceutique, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, 7 bd Jeanne d'Arc, 21033, Dijon-Cedex, France.
- 2 Freddy Rivera est chargé du Cours de Nutrition à l'Université Fédérale de Paralba, Bresil, et prépare un doctorat de 3ème cycle dans le Laboratoire de Biochimie Pharmaceutique.

l'instar de très nombreux autres types de xénobiotiques ont une activité inductrice vis-à-vis des enzymes microsomaux hépatiques. Dans le domaine des pesticides carbaminés, on a montré que le carbaryl conduit à une augmentation du taux du cytochrome P 450 microsomal hépatique (1, 2) tandis que le zinèbe et d'autres dithiocarbamates ont une influence opposée puisqu'ils provoquent une diminution de l'activité de diverses enzymes hépatiques inducibles par les xénobiotiques (3). Cette baisse d'activité des enzymes métabolisant les substances exogènes peut avoir des conséquences significatives sur la détoxification et par conséquent l'activité des médicaments (4).

Les différences d'activité entre les pesticides carbaminés en tant qu'inducteurs d'enzymes microsomaux hépatiques reposent sur des différences de structure chimique; la présence d'un effecteur métallique et celle d'une fonction dithiocarbamate constituent à cet égard deux paramètres importants dont il nous a paru intéressant d'étudier le rôle.

Au cours de ce travail, nous avons, dans cette optique, comparé l'effet d'un pesticide à structure dithiocarbamate et à cation métallique (manèbe) à un autre pesticide (carbaryl) qui, tout en étant apparenté au premier par sa structure carbamate, ne possède ni cation métallique, ni structure dithiocarbamate.

MATERIEL ET METHODES

1. *Traitement des Animaux*

Six lots de cinq rats mâles Wistar ont permis de comparer les effets du manèbe et du carbaryl associés ou non à un traitement simultané par le phénobarbital, produit dont les propriétés inductrices remarquables sont bien connues.

Les animaux sont reçus au laboratoire quelques jours après le sevrage, ils sont placés dans une animalerie maintenue à une température comprise entre 25 et 27°C.

Tous les animaux reçoivent un régime alimentaire semi-synthétique à teneur contrôlée en lipides (100/o d'huile de maïs) et en manganèse (34 mg/kg d'aliment sec). Le régime est maintenu pendant les 3 semaines précédant le sacrifice.

Les différents produits essayés sont administrés aux doses suivantes: manèbe: 53 mg/kg/jour, soit 200 µmole/kg/jour; carbaryl: 50 mg/kg/jour, soit 250 µmole/kg/jour, et phénobarbital:

60 mg/kg/jour, soit 200 μ mole/kg/jour.

Le manèbe et le carbaryl sont administrés sous forme d'une suspension à 10/0 dans une solution isotonique de NaCl renfermant 200/0 de polyéthylène glycol de type 400. Le phénobarbital est injecté par voie intrapéritonéale sous forme de sel de sodium en solution dans le soluté isotonique de NaCl. Les produits sont administrés quotidiennement pendant les six jours qui précèdent le sacrifice.

Le Tableau 1 indique les traitements subis par chacun des 6 lots de rats en expérience, ainsi que le poids moyen des animaux au début des traitements des régimes semisynthétiques.

TABLEAU 1

IDENTIFICATION ET TRAITEMENT DES LOTS D'ANIMAUX

Lots d'animaux	Traitement des animaux	
	Pesticide	Inducteur
1 (T)	—	—
2 (M)	manèbe	—
3 (C)	carbaryl	—
4 (P)	—	phénobarbital
5 (PM)	manèbe	phénobarbital
6 (PC)	carbaryl	phénobarbital

Les animaux sont sacrifiés quinze heures après la dernière injection de phénobarbital ou la dernière administration de pesticide et en état de jeûne depuis 12 heures.

2. Séparation des Fractions Subcellulaires Hépatiques

Le foie est rapidement prélevé, pesé, puis perfusé par une solution isotonique de KCl afin d'éliminer le maximum d'hématies. L'homogénéisation est obtenue grâce à un appareil de Potter à piston de téflon en présence de 5 parties de solution isotonique de KCl. On recueille les fractions successives qui sédimentent après deux centrifugations à 700 g pendant 10 min, une à 8,700 g pendant 10 min (le sédiment correspond à la fraction "mito-

chondries" (5) et une à 25,000 g pendant 20 min, les opérations de sédimentation sont conduites dans une centrifugeuse Beckman type 21 réfrigérée à 4°C.

Le surnageant centrifugé à 105,000 g pendant une heure dans une centrifugeuse Beckman L5⁵⁰ (rotor 421) à 4°C et sous vide laisse déposer la fraction "microsomes" qui, après mise en suspension est centrifugée une nouvelle fois dans les mêmes conditions.

Le culot de mitochondries et celui de microsomes sont repris respectivement par 3 ml et 1.5 ml de KCl. Après homogénéisation manuelle au Potter les suspensions sont conservées au congélateur à - 20°C.

3. *Méthodes de Dosage*

Toutes les analyses sont effectuées séparément sur chaque animal dans chacune des séries, ce qui permet une analyse de signification des résultats d'après le test de Student.

La concentration en protéines de la suspension mitochondriale est déterminée par la méthode colorimétrique du biuret à l'aide du réactif de Gornall, Bardawill et David (6) tandis que pour la suspension de microsomes, la teneur en protéines est mesurée par la méthode de Lowry (7) et celle des lipides totaux par pesée après extraction par le mélange chloroforme-méthanol (1:1, v/v) selon la méthode de Folch, Lees et Sloane (8).

La concentration microsomale en cytochrome P 450 est mesurée par la méthode de Omura et Sato (9) grâce à un spectrophotomètre CARY modèle 15 en utilisant un coefficient d'extinction molaire de $91 \text{ mM}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$.

L'activité éthoxycoumarine dééthylase (ECDE) des microsomes est déterminée par la méthode de Greenlee et Poland (10). L'activité bilirubine UDP glucuronosyltransférase (Bili GT) est étudiée uniquement dans la fraction microsome; nous utilisons la méthode de Black, Billing et Heirwegh (11) après démasquage de l'activité enzymatique par la digitonine. Le dosage des activités "superoxyde dismutase" (SOD) s'effectue par la méthode de Heikkila et Carbat (12) sur l'homogénat hépatique et sur les fractions "mitochondries" et "surnageant final".

La répartition du manganèse dans l'hépatocyte est étudiée uniquement dans les lots d'animaux traités par le manèbe. Le taux de manganèse est déterminé par la méthode d'absorption atomique sans flamme (appareil Beckman 1248). On utilise un émetteur à cathode creuse de manganèse dont on sélectionne la

longueur d'onde de résonance = 279.48 nm; la programmation de température du four est la suivante: séchage: 100°C; calcination: 1,100°C; atomisation: 2,200°C.

4. *Séparation des Phosphatidyléthanolamines Microsomales*

Une partie aliquotée de l'extrait lipidique obtenu à partir de l'homogénat hépatique selon la méthode de Folch (8) est fractionnée par chromatographie en couche mince monodimensionnelle ascendante. On utilise des plaques de gel de silice MERCK de 1 mm d'épaisseur contenant un indicateur de fluorescence (type G 60, F 254) préalablement activées par passage à l'étuve à 120°C pendant une heure. Le solvant de migration est le mélange chloroforme/méthanol/eau 65:25:4 (v/v/v).

Après repérage en lumière ultraviolette grâce à des témoins marginaux, la bande des phosphatidyléthanolamines est grattée, recueillie et éluée par 2 ml du mélange chloroforme-méthanol 1:1 (v/v) en présence de 2 gouttes d'eau distillée. Les débris de silice sont éliminés par centrifugation.

5. *Analyse des Acides Gras de la Fraction Phosphatidyléthanolamine*

L'éluat est additionné de 50 µg d'acide pentadecanoïque puis évaporé sous courant d'azote. On ajoute 500 µl de soude méthanolique 0.5 N et on porte en tube fermé pendant 5 min au B.M. bouillant. Après refroidissement, on ajoute 200 µl de BF₃ à 140/o dans le méthanol et porte à nouveau au B.M. bouillant pendant 2 min. On laisse refroidir, reprend par l'heptane (250 µl) et deshydrate sur Na₂SO₄ anhydre (13).

La chromatographie en phase gazeuse est effectuée sur colonne DEGS 100/o (2 m $\frac{1}{8}$ pouce). L'appareil Perkin-Elmer Sigma 3 est équipé d'un détecteur à ionisation de flamme; la programmation de température est la suivante: phase isotherme initiale à 175°C pendant 12 min, augmentation de température de 10°C/min jusqu'à 192°C, phase isotherme finale à 192°C pendant 30 min. Les tracés permettent d'après le calcul de Carroll (14) de connaître le pourcentage des acides gras principaux. Nous ramenons néanmoins leur répartition à trois catégories essentielles: acides gras saturés (C 16:1 + C 18:1) et acides gras polyinsaturés: (C 18:2 + C 18:3 + C 20:4 + C 22:6).

RESULTATS

Le Tableau 2 indique les modifications de poids des animaux au cours de l'expérimentation et le rapport $\frac{\text{poids foie}}{\text{poids corporel}}$ au moment du sacrifice.

Le traitement par le manèbe n'a pas affecté l'évolution pondérale des animaux; par contre le carbaryl, surtout lorsqu'il est associé à un traitement par le phénobarbital tend à amener un ralentissement de la prise de poids. Des variations significatives du poids corporel des animaux ont du reste été observées par Gaillard, Chamoiseau et Derache (2) avec des doses de carbaryl deux fois supérieures à celles que nous avons utilisées.

Le poids du foie rapporté au poids corporel est augmenté par le phénobarbital parallèlement à l'effet d'induction des enzymes microsomales. Cet effet n'est pas modifié par le manèbe qui n'a par ailleurs aucun effet par lui-même à cet égard. En revanche, le carbaryl augmente légèrement le poids du foie et cet effet s'ajoute à celui du phénobarbital chez les animaux traités simultanément par ces deux produits (14, 15).

L'augmentation des activités enzymatiques hépatiques éthoxycoumarine dééthylase (ECDE) et bilirubine glucuronosyl-transférase ainsi que du taux de cytochrome P 450 résultent des effets inducteurs du phénobarbital (Tableau 3). Un effet similaire mais beaucoup plus faible peut être observé après un traitement par le carbaryl.

En ce qui concerne le manèbe, nous n'observons aucune influence sur le cytochrome P 450 microsomal. Par ailleurs, la légère diminution de l'activité éthoxycoumarine dééthylase que nous observons n'est pas significative.

Dans le domaine de la conjugaison glucuronique de la bilirubine, seul le phénobarbital possède un effet qui conduit à une stimulation très significative de l'activité de glucuronoconjugaison des microsomes hépatiques. Le carbaryl et le manèbe n'interviennent pas.

Il est intéressant de considérer les modifications apportées lorsque le traitement par le phénobarbital est associé à un traitement par le manèbe ou par le carbaryl. L'association avec le carbaryl doué par lui-même d'une certaine activité inductrice ne modifie pas de façon systématique les effets du phénobarbital. En revanche, l'association avec le manèbe conduit à un affaiblissement des effets du phénobarbital sur le taux de cytochrome

TABLEAU 2
EVOLUTION DU POIDS—CORPOREL ET VALEUR DU RAPPORT $\frac{\text{poids foie}}{\text{poids corporel}}$
DAN LES DIVERS LOTS D'ANIMAUX
 (les poids sont exprimés en g)

Série	Traitement	Poids moy. animaux au début de l'exp.		Poids moy. animaux au sacrifice		Rapport $\frac{\text{poids foie}}{\text{poids corporel}}$	
		χ	σ	χ	σ	χ	σ
1	T	122.7 ± 16.4		156.2 ± 22.4		4.82 ± 0.60	
2	M	121.0 ± 11.5 (NS)		164.3 ± 12.7 (NS)		4.89 ± 0.74 (NS)	
3	C	121.1 ± 14.0 (NS)		152.9 ± 14.7 (NS)		5.40 ± 1.15 (NS)	
4	P	122.7 ± 7.5 (NS)		164.5 ± 12.7 (NS)		6.42 ± 0.60 **	
5	PM	121.0 ± 12.0 (NS)		162.3 ± 13.5 (NS)		6.77 ± 0.94 **	
6	PC	121.7 ± 10.6 (NS)		142.0 ± 8.7 (NS)		7.04 ± 0.65 **	

Degré de signification par rapport au lot témoin * correspond à $p < 0.05$.
 ** correspond à $p < 0.01$.

TABLEAU 3

MODIFICATIONS DES ACTIVITES ENZYMATIQUES ET DU RAPPORT DES TAUX PROTIDIQUE ET LIPIDIQUE DANS LES MICROSOMES HEPATIQUES

Série	Traitement	Taux lipides		Conc. cyt P 450		Activité ECDE		Activité biliglucuronosyl	
		Taux protéines		nmole/ mg protéines		nmole/min/ mg protéines		transférase nmole/min/ mg protéines	
		χ	σ	χ	σ	χ	σ	χ	σ
1	T	0.47 ± 0.08		0.75 ± 0.09		1.06 ± 0.30		115.20 ± 20.60	
2	M	0.50 ± 0.08 (NS)		0.83 ± 0.13 (NS)		0.95 ± 0.20 (NS)		112.83 ± 15.36 (NS)	
3	C	0.48 ± 0.10 (NS)		0.82 ± 0.06 (NS)		1.39 ± 0.17 (NS)		106.81 ± 31.08 (NS)	
4	P	0.66 ± 0.11 *		3.17 ± 0.74 **		4.21 ± 1.14 **		171.76 ± 25.51 **	
5	PM	0.58 ± 0.06 (NS)		2.67 ± 0.60 **		3.53 ± 0.76 **		162.07 ± 31.32 **	
6	PC	0.57 ± 0.16 (NS)		2.93 ± 0.70 **		4.30 ± 0.69 **		166.04 ± 19.22 **	

Degré de signification par rapport au lot témoin * correspond à $p < 0.05$.

** correspond à $p < 0.01$.

P 450 et sur l'activité éthoxycoumarine dééthylase au niveau des microsomes.

L'augmentation du taux relatif de lipides et la stimulation de la conjugaison de la bilirubine consécutives au traitement par le phénobarbital, ne sont pas modifiées lorsque les rats reçoivent simultanément le manèbe ou le carbaryl.

Le traitement par le phénobarbital se traduit par une diminution de l'insaturation des phospholipides des microsomes hépatiques (5). Nos résultats sont en accord avec les données de la littérature pour ce qui est des phosphatidyléthanolamines (Tableau 4).

Le carbaryl développe un effet qui semble aller dans le même sens; toutefois les différences obtenues chez les rats témoins et chez les rats traités par le carbaryl ne sont pas significatives.

Les effets du manèbe sont beaucoup originaux et plus inattendus. Le traitement par le manèbe seul se traduit par une diminution de l'insaturation des phosphatidyléthanolamines microsomales avec une augmentation du pourcentage des acides gras saturés au détriment des acides gras polyinsaturés alors que les acides gras monoinsaturés ne sont pas "touchés". Cependant, chez les animaux traités simultanément par le manèbe et le phénobarbital, il n'y a nullement addition des effets. Chez ces animaux, la diminution du degré d'insaturation des acides gras des phosphatidyléthanolamines microsomales est inférieure à la fois à ce qu'elle est chez les rats traités par le seul manèbe ou chez les animaux traités par le seul phénobarbital, du moins en ce qui concerne les acides gras polyinsaturés.

L'apport de manganèse sous forme de manèbe conduit à une augmentation significative de la teneur en manganèse de l'homogénat hépatique. La répartition du manganèse au niveau des subparticules de l'hépatocyte présente des variations individuelles assez importantes; on observe néanmoins que la fraction mitochondrie qui possède une superoxyde dismutase à cation Mn^{++} n'est pas significativement enrichie en manganèse à la suite d'un traitement par le manèbe (Tableau 5).

Les activités superoxyde dismutase ne sont pas modifiées par le phénobarbital. Il est intéressant de noter ainsi que les propriétés inductrices d'enzymes de ce produit sont indépendantes de tout effet sur les enzymes dégradant l'ion O_2^- .

Par ailleurs, l'activité de la superoxyde dismutase mitochondriale tend à diminuer après un traitement par le manèbe, seul ou en association avec le phénobarbital; cependant, les variations ne

TABLEAU 4

REPARTITION DES ACIDES GRAS SATURES, MONOINSATURES ET POLYINSATURES
DES PHOSPHATIDYLETHANOLAMINES HEPATIQUES

Série	Traitement	°/o A.G. saturés		°/o A.G. monoinsaturés		°/o A.G. polyinsaturés	
		χ	σ	χ	σ	χ	σ
1	T	68.81 ± 7.85		18.67 ± 4.92		12.52 ± 3.98	
2	M	74.72 ± 2.98 (NS)		17.27 ± 2.68 (NS)		8.01 ± 1.81 *	
3	C	70.30 ± 7.47 (NS)		17.48 ± 4.14 (NS)		12.22 ± 3.39 (NS)	
4	P	78.70 ± 2.73 *		13.26 ± 2.14 *		8.06 ± 0.66 **	
5	PM	73.95 ± 4.94 (NS)		14.82 ± 4.37 (NS)		11.21 ± 0.98 (NS)	
6	PC	82.24 ± 6.64 **		10.61 ± 3.87 **		7.17 ± 3.32 **	

Dégré de signification par rapport au lot témoin * correspond à $p < 0.05$.

** correspond à $p < 0.01$.

TABLEAU 5

CONCENTRATION DU MANGANESE ET ACTIVITE SUPEROXYDE DISMUTASE DANS L'HOMOGENAT ET LES FRACTIONS SUBCELLULAIRES HEPATIQUES

Série	Traite- ment	Concentration en manganese				Activité SOD							
		Homogénat (mg Mn/mg prot.)		Mitochondries (mg Mn/mg prot.)		Microsomes (mg Mn/mg prot.)		Surnageant final (mg Mn/mg prot.)		Mitochondries (mg/mg prot.)		Surnageant final (mg/mg prot.)	
		\bar{X}	σ	\bar{X}	σ	\bar{X}	σ	\bar{X}	σ	\bar{X}	σ	\bar{X}	σ
1	T	13.0 ± 1.5		26.1 ± 8.0		5.5 ± 1.7		2.8 ± 0.9		8.2 ± 2.8		18.3 ± 3.4	
2	M	18.7 ± 4.5 **		34.2 ± 9.6 (NS)		8.4 ± 2.6 (NS)		3.9 ± 0.9 (NS)		7.3 ± 1.2 (NS)		16.9 ± 1.6 (NS)	
4	P	14.6 ± 3.2 (NS)		30.5 ± 10.0 (NS)		5.9 ± 2.1 (NS)		3.0 ± 1.0 (NS)		7.9 ± 2.6 (NS)		17.7 ± 3.9 (NS)	
5	PM	17.5 ± 1.6 *		30.2 ± 9.0 (NS)		7.7 ± 2.2 (NS)		4.1 ± 1.3 (NS)		7.1 ± 4.1 (NS)		17.7 ± 4.4 (NS)	

Degré de signification par rapport au lot témoin * correspond à $p < 0.05$.

** correspond à $p < 0.01$.

sont pas entièrement significatives en raison de la dispersion des résultats.

CONCLUSIONS

1. Aucune modification significative des enzymes inductibles ou du cytochrome P 450 des microsomes hépatiques n'a été retrouvée chez les animaux traités uniquement par le manèbe; il n'est pas exclu que ces effets apparaissent lorsque les doses de manèbe sont augmentées, du moins l'influence très légère de l'activité éthoxycoumarine dééthylase que nous avons observée le laisse prévoir. Toutefois, la dose quotidienne que nous avons administré au rat est déjà considérable: une exposition chronique au manèbe chez le travailleur pourra sans doute difficilement mettre en jeu des doses répétitives comparables à celles que nous avons choisies. On peut donc conclure que les effets du manèbe au niveau des enzymes microsomales hépatiques inductibles sont extrêmement faibles sinon inexistantes.

2. Cependant, le manèbe s'oppose à certains des effets inducteurs du phénobarbital: il modère en particulier l'augmentation des taux mitochondriaux de cyt P 450 et d'éthoxycoumarine dééthylase provoquée par le phénobarbital, mais il ne s'oppose pas à l'influence de ce dernier sur la conjugaison glucuronique de la bilirubine. Ceci montre que l'effet du manèbe en tant qu'antagoniste de l'induction enzymatique prend appui sur l'un des constituants du système redox assurant l'activité des monooxygénases avec le concours du cytochrome P 450.

Sur plusieurs points, les effets du manèbe se différencient de ceux du carbaryl. On note par exemple que l'activité éthoxycoumarine dééthylase et le taux de cyt P 450 des microsomes hépatiques sont légèrement augmentés par le carbaryl mais très légèrement diminués par le manèbe. En outre, le manèbe s'oppose aux effets du phénobarbital sur les enzymes inductibles dépendantes du cyt P 450 et sur la composition en acide gras des phosphatidyléthanolamines microsomales alors que le carbaryl ne possède pas cette influence. Cette opposition des effets des deux pesticides est remarquable lorsqu'on considère leurs structures chimiques assez proches: la différence dépend forcément de l'un des deux traits de structure caractéristiques du manèbe et que le carbaryl ne possède pas: structure dithiocarbamique et présence de manganèse.

On ne pouvait exclure notamment que l'apport de manganèse sous forme de manèbe n'intervienne en stimulant l'activité de la superoxyde dismutase mitochondriale hépatique, enzyme qui dépend d'un activateur métallique Mn^{++} . Nos résultats permettent d'écarter cette hypothèse puisque:

— d'une part, bien que le traitement par le manèbe conduise effectivement à une augmentation d'ailleurs faiblement significative de la teneur en Mn^{++} du tissu hépatique, la distribution de cet élément dans les différentes fractions subcellulaires n'est pas fondamentalement modifiée et en particulier le taux de manganèse mitochondrial n'est pas augmenté de façon significative.

— d'autre part, l'activité superoxyde dismutase n'est pas modifiée à la suite du traitement par le manèbe, qu'il s'agisse de l'enzyme mitochondriale ou de l'enzyme cytoplasmique.

3. L'influence du traitement par le manèbe sur les acides gras entrant dans la composition des céphalines microsomales hépatiques présente également une grande originalité. Ce traitement amène en effet une diminution de l'insaturation des céphalines similaire à celle enregistrée sous l'influence d'un inducteur tel que le phénobarbital (17) et ceci bien que le manèbe n'ait lui-même absolument aucune propriété inductrice d'enzymes et qu'il s'oppose à certaines des activités inductrices du phénobarbital.

RESUMEN

ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE PESTICIDAS CARBAMINADOS SOBRE LA INDUCCION DE ENZIMAS HEPATICAS DE LA RATA Y SOBRE LAS MODIFICACIONES DE LOS FOSFOLIPIDOS MICROSOMALES

Se estudió la influencia de dos pesticidas carbaminados: El Manebe y el Carbaryl sobre las enzimas de los microsomas hepáticos que son inducibles en la rata. Se encontró que las dos sustancias ensayadas por sí mismas tienen efectos de poca importancia en el peso del hígado y en el tenor de citocromo P 450 y de bilirubina glucuronosil transferasa de la fracción microsomal del homogeneizado hepático. Parece ser, sin embargo, que el Carbaryl provoca una pequeña inducción mientras que el Manebe produce un efecto inverso.

Por otra parte, el Manebe modifica muy sensiblemente los efectos inductores del fenobarbital al asociarse a este último. Así, en el animal tratado simultáneamente con Manebe y fenobarbital, el incremento del tenor de

citocromo P 450 hepático, así como las variaciones de la repartición de los ácidos grasos en los fosfolípidos son netamente de menor importancia que en los animales tratados únicamente con el fenobarbital.

SUMMARY

STUDY ON THE INFLUENCE OF CARBAMINE PESTICIDES ON THE INDUCTION OF LIVER ENZYMES OF THE RAT AND ON THE MODIFICATION OF MICROSOMAL PHOSPHOLIPIDS

The influence of two carbamine pesticides i.e., manebe and carbaryl upon the hepatic microsomal enzymes induction in the rat was studied. Both substances, when administered by themselves, affect only slightly liver weight, P 450 cytochrome rates and bilirubin glucuronosyltransferase, in the microsome fraction of the hepatic homogenate.

It seems, however, that carbaryl is involved in producing a slight induction, whereas manebe acts inversely.

Yet, manebe changes largely the induction effects of phenobarbital when associated with the latter. In the animal treated simultaneously with manebe and phenobarbital, the increase in the rate of hepatic microsomal P 450 cytochrome as well as the variations in the distribution of fatty acids in phospholipids, are significantly lower than in the animal solely treated with phenobarbital.

BIBLIOGRAPHIE

1. Cabridenc, R., I. Chouroulinkov & E. Lavaur. Evaluation au stade laboratoire des risques toxiques résultant des pesticides. *Cahiers Nutr. Diet.*, 4: 47-53, 1979.
2. Gaillard, D., G. Chamoiseau & R. Derache. Interactions du carbaryl et du nitrite de sodium sur les activités enzymatiques de quelques mono-oxygénases microsomiques du foie de rat. *J. Pharmacol.*, 8: 437-447, 1977.
3. Albrecht, R. **Influence des Pesticides Lindane et Zinèbe sur les Mono-oxygénases Microsomiques du Foie chez le Rat.** Thèse, Université Paris VII, 1979.
4. Peters, R. A. Lethal synthesis. *Proc. Royal Soc. Biol.*, 139: 143-170, 1952.
5. Hogeboom, G. H. Fractionation of cell components of animal tissues. In: **Methods in Enzymology**. Kaplan (Ed.). Vol. I. New York, N. Y..

- Academic Press Inc., 1955, p. 16-20.
6. Gornall, A. G., C. J. Bardawill & M. M. David. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.*, **177**: 751-766, 1949.
 7. Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, L. Farr & R. J. Randall. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**: 265-275, 1951.
 8. Folch, J., M. Lees & S. G. H. Sloane. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**: 497, 1957.
 9. Omura, T. & R. Sato. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. *J. Biol. Chem.*, **239**: 2370-2385, 1964.
 10. Greenlee, W. F. & A. Poland. An improved assay of 7-ethoxycoumarin o-deethylase activity: induction of hepatic enzyme activity in C 57 BL/6 J and DBA/2 J mice by phenobarbital, 3-methylcholanthrene and 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **U. 205**: 559-605, 1978.
 11. Black, M., B.H. Billing & K.P. M. Heirwegh. Determination of bilirubin UDP glucuronyltransferase activity in needle-biopsy specimens of human liver. *Clin. Chim. Acta*, **29**: 27-35, 1970.
 12. Heikkila, R. E. & F. Cabbat. A sensitive assay for superoxyde dismutase based on the autoxidation of 6-hydroxydopamine. *Anal. Biochem.*, **75**: 356-362, 1976.
 13. Labadie, M., P.M. Lapland, M. Rigand & J.C. Breton. Dosage spécifique des acides gras non estérifiés du plasma humain. *Ann. Biol.*, **32**: 59-63, 1974.
 14. Carroll, K. K. Quantitative estimation of peak areas in gas-liquid chromatography. *Nature*, **191**: 377-378, 1961.
 15. Adachi, Y. & T. Yamamoto. Influence of drugs and chemicals upon hepatic enzymes and proteins. Structure activity relationship between various barbiturates and microsomal enzymes induction in rat liver. *Biochem. Pharmacol.*, **25**: 663-668, 1976.
 16. Holtzmann, L. J. & R. Gillette. The effect of phenobarbital on the turnover of microsomal phospholipids in male and female rats. *J. Biol. Chem.*, **243**: 3020-3028, 1968.
 17. Davison, S. C. & E. D. Wills. Changes in the phospholipid composition of the liver endoplasmic reticulum after induction with drugs and carcinogen. *Biochem. Soc. Transac.* **534 and Meeting**. Vol. 1. Nottingham, 1973, p. 362-364.