

45

DEVELOPPEMENT ET DIFFERENCIATION DES SYSTEMES DE BIOTRANSFORMATION LIES AU LOCUS Ah DANS LES HEPATOCYTES DE RAT. EFFET DE LA MALNUTRITION PROTEIQUE.

Migaud M.L., Narbonne J.F.

Laboratoire de Toxicologie Alimentaire, Université de Bordeaux I, 33405 Talence Cédex, France.

Le but du travail présenté est d'étudier d'une part, le développement des activités enzymatiques liées à l'expression du gène Ah (Benzo(a)pyrène monooxygénase (BaPMO) liée à l'isozyme c du cytochrome P-450, la forme GT1 de la glucuronosyltransférase, la forme E de la glutathion-S-transférase (GST)) et les conséquences toxicologiques du métabolisme du BaP évaluées en termes de génotoxicité, d'autre part les effets, sur ces paramètres, de la restriction protéique pouvant affecter soit l'individu après le sevrage, soit la mère au moment de la gestation et de la lactation.

Des groupes de rats nés de mères recevant un apport normal (20%) ou restreint (6%) en caséine, sont sacrifiés au stade foetal avant la naissance, pendant la période de lactation et après le sevrage. Leurs foies sont prélevés et les fractions cytosolique, microsomique et post-mitochondriale (S9) sont préparées à partir des hépatocytes.

Les résultats montrent que les activités enzymatiques liées à l'Ah locus, faibles chez le foetus, augmentent rapidement après la naissance. A ce stade, la restriction protéique de la mère n'affecte pas l'organisme foetal du fait de mécanismes de compensation.

Pendant la période de lactation, on note une diminution du cytochrome P-450 et une augmentation de la BaPMO. La plupart de ces variations sont annulées au sevrage, et de nouvelles modifications apparaissent ensuite, caractérisées par une chute du cytochrome P-450, des activités BaPMO et GST. Tout au long de l'expérimentation la GT1 n'est pas affectée.

Ceci se traduit par une élévation de la mutagenèse du BaP observée in vitro à l'aide d'un test bactérien et en présence de S9.

46

EVALUATION DE LA CAPACITE DE METABOLISATION DE L'HEPATOCYTE DE RAT CULTIVE EN PRESENCE DE CELLULES EPITHELIALES D'ORIGINE HEPATIQUE.

Carrera G., Alary J., De Saint Blanquet G., Anglade F., Gardel P.

INSERM U-87, 2 rue François Magendie, 31400 TOULOUSE.

Le métabolisme d'un herbicide, le chlorprophame (CIPC) a été étudié sur des cultures conventionnelles d'hépatocytes, de cellules épithéliales et des cultures mixtes : hépatocytes-cellules épithéliales.

La lignée d'épithéliales (44^{ème} repiquage) a été purifiée au laboratoire et les hépatocytes obtenus par perfusion à la collagénase. Le CIPC est ajouté quotidiennement à la concentration de 12 µM dans les 3 types de cultures. Les milieux sont prélevés chaque 24 heures, l'albumine quantifiée et le CIPC et ses métabolites dosés par HPLC.

Après 3 jours de culture pure, les hépatocytes hydroxylent, en 24 heures, 93% du CIPC, mais seulement 22% le 15^{ème} jour. Après 15 jours de culture, la sulfoconjugaison est inhibée de 82,1% dans les cultures pures d'hépatocytes alors que la glucuronoconjugaison l'est de 71,8%. Par contre, les cellules épithéliales en culture conventionnelle sont dépourvues d'activité enzymatique de détoxication.

Dans les cultures mixtes, 70% du CIPC est hydroxylé en 24 heures le 3^{ème} jour et 86,7% le 15^{ème}. La glucuronoconjugaison du 4-OH CIPC reste constante, entre 25 et 30%, analogue à celle observée dans des cultures pures d'hépatocytes au 3^{ème} jour. La sulfoconjugaison du 4-OH CIPC augmente progressivement de 43,4% le 3^{ème} jour à 54,7% le 15^{ème} jour. La proportion de 4-OH CIPC sulfoconjugué (2/3) et glucuronoconjugué (1/3) est identique à celle observée avec des hépatocytes isolés maintenus en suspension pendant 2 heures.

Dans ces cocultures, la sécrétion d'albumine reste élevée pendant toute la période expérimentale contrairement à ce qui est observé dans les cultures pures d'hépatocytes où elle décroît en fonction de la durée de la culture.

La sécrétion d'albumine et l'activité des enzymes de biotransformation montre que dans ce modèle de culture mixte, l'hépatocyte conserve l'essentiel de ses fonctions spécifiques sur une période de 15 jours qui peut être très vraisemblablement prolongée.