

Activité phagocytaire du système réticuloendothélial du rat après administration d'un anticholinestérasique, le carbaryl

Phagocytic activity of the reticuloendothelial system in the rat after administration of an anticholinesterasic pesticide, carbaryl

B. Pipy, M. Béraud et D. Gaillard

Groupe de Recherches sur la Toxicologie des Aliments et des Boissons, INSERM – U.87, Institut de Physiologie, 2, rue François Magendie, F-31400 Toulouse (France), 16 mai 1977

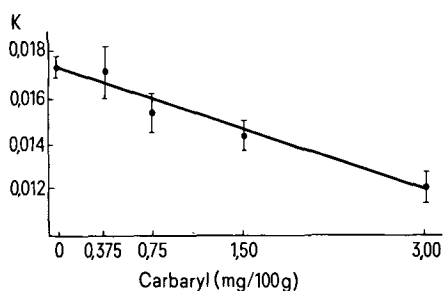
Summary. The effects of 4 carbaryl doses (0,375, 0,75, 1,50 and 3 mg/100 g) on the reticuloendothelial system (RES) phagocytic activity were studied 1 h after their administration to male rats. Carbaryl reduced RES phagocytic activity. Results showed a dose-dependent drop in RES phagocytic activity. Carbaryl might act as an inhibitor of phagocytes by saturating them to greater or lesser degree, depending on the dose administered.

Il est connu que des substances particulières sont éliminées de la circulation sanguine principalement par les cellules du système réticuloendothélial (SRE)¹. Cependant, de nombreux points concernant les mécanismes de phagocytose restent obscurs, notamment ceux intervenant au niveau membranaire où des enzymes pourraient jouer un rôle². Ainsi le groupe des sérine estérases localisées dans les membranes des phagocytes a été supposé comme indispensable à de nombreux processus membranaires lors de la phagocytose³. L'inhibition sélective de ces enzymes par des esters phosphonates et des composés organophosphorés a permis de mettre en évidence une diminution de la capacité phagocytaire de leucocytes en culture⁴. A la suite de ces données, nous nous sommes demandés si un carbamate, insecticide inhibiteur de la cholinestérase, le carbaryl (1 Naphtyl-N-méthyl carbamate, Sevin®), largement utilisé en agriculture, ne pourrait pas perturber la capacité phagocytaire des cellules du SRE étant donné que la cholinestérase est une sérine estérase.

Matériel et méthodes. Nous avons utilisé des lots de 8 rats mâles (Sprague-Dawley) pesant 250–260 g mis au jeûne depuis 15 h. Les rats anesthésiés à l'éther reçoivent i.v. (veine du pénis) du carbaryl en suspension isotonique (glucose: 5,4 g/100 ml; tween 20: 2,8 mg/100 ml). Le carbaryl est administré à 4 doses subléthales en progression

géométrique les unes par rapport aux autres de raison 2; la dose la plus faible est 0,375 mg/100 g de poids corporel. Il est à noter que ces doses ont été choisies après détermination de la DL₅₀ dans nos conditions expérimentales; elle est de 53 mg/kg de poids corporel. Les témoins reçoivent parallèlement une solution isotonique équivalente. Une heure après traitement les rats, anesthésiés au pentobarbital, reçoivent par la veine jugulaire une injection de carbone colloïdal C 11-1431 a (provenant de Günther-Wagner, Hanovre/Allemagne) afin de mesurer l'activité phagocytaire selon une méthode précédemment décrite⁶. L'index phagocytaire K est calculé selon l'équation: $\log C = K t + \log C_0$ où C et C₀ sont les concentrations de carbone colloïdal dans le sang aux temps t et t₀ de l'injection.

Résultats et discussion. Les résultats indiqués dans le tableau montrent une diminution de l'index phagocytaire du SRE en fonction de la dose de carbaryl administrée. La comparaison statistique, par le test de t de Student, des index phagocytaires (K) des lots traités au carbaryl par rapport au lot témoin montre qu'à la dose 0,375 mg/100 g le carbaryl n'a pas d'effet sur l'activité phagocytaire des macrophages du SRE. Les doses de 0,75, de 1,50 et de 3,0 mg/100 g diminuent significativement la phagocytose de 15%, 21% et 32% respectivement. L'analyse de ces résultats montre que l'intensité de l'inhibition augmente en fonction de la dose de carbaryl administrée. Pour préciser la forme et la signification de la liaison entre ces 2 variables, nous avons calculé la droite de régression vraie⁷; cette droite, représentée sur la figure, a pour équation:



Relation entre l'index phagocytaire du système réticuloendothélial (K) et la dose de carbaryl administrée au rat.

- 1 T. M. Saba, Archs intern. Med. 126, 1031 (1970).
- 2 T. P. Stossel, N. Engl. J. Med. 290, 774 (1974).
- 3 E. L. Becker et P. M. Henson, Adv. Immun. 17, 93 (1973).
- 4 D. S. Pearlman, P. A. Ward et E. L. Becker, J. exp. Med. 130, 745 (1969).
- 5 J. E. Casida, Science 146, 1011 (1964).
- 6 D. Gaillard, S. Mitjavila et R. Derache, C. r. Acad. Sci. Paris 262, 2169 (1966).
- 7 D. Schwartz, Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes, 3e ed. Flammarion, Paris 1969.

Effet de différentes doses de carbaryl sur l'activité phagocytaire (K) du système réticuloendothélial du rat (n = 8)

Carbaryl (mg/100 g de poids corporel)				
0 (témoins)	0,375	0,75	1,50	3,00
- 0,0180 ± 0,0005	- 0,0171 ± 0,0012	- 0,0154* ± 0,0007	- 0,0143** ± 0,0007	- 0,0121*** ± 0,0007

*Différence significative au seuil par rapport aux témoins p < 0,02, **p < 0,01, ***p < 0,001.

tion: $K = -0,00037 C - 0,0174$ où sont représentés: l'index phagocytaire: K , la dose de carbaryl administrée: C , la pente de la droite: $-0,00037 \pm 0,00006$, l'index phagocytaire lorsque l'administration de carbaryl est nulle: $-0,0174 \pm 0,0003$. L'étude statistique de la pente de cette droite (test de t) montre que la variation de l'index phagocytaire est fonction de la dose de carbaryl administrée ($t = 6$; $p < 0,001$). La comparaison des variances entre les doses de carbaryl et de la variance totale des données montre que la droite de régression est bien linéaire ($F = 0,65 < F_{35}^1$ à 5%). Ainsi, dans nos conditions expérimentales, il y a une relation linéaire entre la dose de carbaryl administrée et l'inhibition de la phagocytose observée 1 h après traitement. Le carbaryl semble donc avoir un impact sur les cellules du SRE et notamment sur les cellules de Küpffer du foie responsables à elles seules de 80–90% de l'épuration sanguine du carbone colloïdal⁸. Cette diminution progressive de la phagocytose en fonction de la dose administrée laisse supposer que le carbaryl, substance anticholinestérasique, pourrait être responsable de l'inhibition de sérine estérases pouvant jouer un rôle dans les processus membranaires accompagnant la phagocytose⁴. Ce résultat peut être rapproché de l'inhibition de la phagocytose des globules rouges par des leucocytes en présence d'inhibiteurs de la sérine estérase³ où l'intensité de l'inhi-

bition est également fonction de la dose. La diminution progressive de la vitesse de phagocytose du carbone colloïdal pourrait être également le résultat d'une compétition croissante entre les particules de carbaryl que nous avons administrées en fine suspension et le carbone colloïdal. Un tel mécanisme a été montré lorsque le carbone colloïdal et une autre substance particulaire se trouvent en compétition pour les sites membranaires des macrophages⁹. Des études plus approfondies seraient nécessaires pour élucider la cause de cette inhibition et les mécanismes membranaires régissant la phagocytose. Connaissant l'importance de la fonction phagocytaire des macrophages du SRE dans la défense de l'organisme, il serait en effet important de préciser ces faits surtout lorsqu'on sait que le carbaryl, présent dans l'environnement, peut être absorbé en tant que résidu dans les aliments ou être en contact cutané accidentel¹⁰.

- 8 B. N. Halpern, G. Biozzi, G. Pequignot, B. Delaloye, C. Stiffel et D. Mouton, *Path. Biol.* 7, 1637 (1959).
- 9 S. J. Normann, *Lab. Invest.* 37, 161 (1974).
- 10 R. J. Feldmann et H. I. Maibach, *Toxic. appl. Pharmac.* 28, 126 (1974).

Different effects of synthetic Δ^9 -tetrahydrocannabinol and cannabis extract on steroid metabolism in male rats¹

M. P. Maskarinec, G. Shipley, M. Novotny², D. J. Brown and R. B. Forney

Department of Chemistry, Indiana University, Bloomington (Indiana 47401), and Department of Toxicology, Indiana University School of Medicine, Indianapolis (Indiana 46202, USA), 1 April 1977

Summary. Repeated oral administration of cannabis extract as well as synthetic Δ^9 -tetrahydrocannabinol to male rats produced significant changes in excretion of androgenic steroids and their metabolites as detectable in blood and urine. Cannabis extracts were found to be significantly more active than the mixtures containing same amounts of synthetic cannabinoids.

There have been conflicting reports^{3–5} on cannabis affecting the normal reproductive ability of human males. Studies with rodents, using greater amounts of cannabis resin or synthetic Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC), have presented a more conclusive evidence for reduced copulatory behavior^{6,7}, growth inhibition^{8,9} and a retarded development of testes, seminal vesicles, and prostate^{8,10,11}. Significant accumulation of the radioactive THC in rat testes has also been noted¹². Since the 'demasculinizing factor' of cannabis does not appear to have directly an estrogenic activity¹¹, a complex mechanism of altered steroidal pathways appears to be involved. Detailed biochemical studies can potentially elucidate the consequences of administration of the drug. During the course of such studies¹³, we have observed that the alteration in the excretion of steroids is significantly different for cannabis extracts as compared to synthetic THC. Such differences were observed with both urinary and plasma steroids.

Materials and methods. Male Wistar rats (100–200 days old) weighing 300–450 g were orally administered for 7 days either the extract of Mexican cannabis or synthetic THC (doses corresponding up to 50 mg/kg of THC) using propylene glycol as the vehicle, with controls given vehicle only. All drugs were obtained from the National Institute on Drug Abuse, Rockville, Maryland. The animals were first allowed to acclimate themselves in the metabolism cages for 3 days. As a rule, 4 animals were used in each

experiment, but the described experiments were repeated at least 3 times with quite reproducible results. Urine samples were collected (total of 11 daily collections) over dry ice and kept frozen until analyzed. Venous blood

- 1 Acknowledgment. This work was supported by Grant No. R01-DA-00507 from the National Institute on Drug Abuse, US Public Health Service.
- 2 Correspondence should be addressed to: M. N., Department of Chemistry, Indiana University, Bloomington, Indiana 47401.
- 3 J. Harmon and M. A. Aliapoulos, *New Engl. J. Med.* 287, 936 (1972).
- 4 R. C. Kolodny, W. H. Masters, R. M. Kolodner and G. Toro, *New Engl. J. Med.* 290, 872 (1974).
- 5 J. H. Mendelson, J. Kuenhle, J. Ellingboe and T. F. Babor, *New Engl. J. Med.* 297, 1051 (1974).
- 6 A. Merari, A. Barak and M. Plaves, *Psychopharmacologia* 28, 243 (1973).
- 7 M. E. Corcoran, A. Amit, C. W. Malsbury and S. Daykin, *Res. Commun. chem. Path. Pharmac.* 7, 779 (1974).
- 8 G. R. Thompson, M. M. Mason, H. Rosenkrantz and M. C. Braude, *Toxic. appl. Pharmac.* 25, 373 (1973).
- 9 N. Kokka and J. F. Garcia, *Life Sci.* 15, 329 (1974).
- 10 V. P. Dixit, V. W. Sharma and W. K. Lohiya, *Eur. J. Pharmac.* 26, 111 (1974).
- 11 A. B. Okey and G. S. Truant, *Life Sci.* 17, 1113 (1975).
- 12 B. T. Ho, G. E. Fritchie, P. M. Kralik, L. F. Englert and W. M. McIsaak, *J. Pharm. Pharmac.* 22, 538 (1970).
- 13 M. P. Maskarinec, G. Shipley, M. Novotny, D. J. Brown and R. B. Forney, in press.