

Biomarqueurs d'exposition en milieu terrestre : impact d'hydrocarbures halogénés sur l'activité de trois systèmes enzymatiques chez *Drosophila pseudoobscura*

MARIE DANNAU¹
LIONEL LEENAERS¹
MARCEL AMICHOT²
ÉRIC HAUBRUGE¹

1. Unité de zoologie générale et appliquée, Faculté universitaire des sciences agronomiques de Gembloux, B-5030 Gembloux Belgique
<haubruge.e@fsagx.ac.be>

2. Laboratoire de biologie des invertébrés, INRA, Centre d'Antibes, BP 2078, 06606 Antibes cedex, France

Tirés à part :
E. Haubruge

Résumé. L'induction de différents systèmes enzymatiques, en présence de différents polluants atmosphériques, a été étudiée chez la *Drosophila pseudoobscura*. Les systèmes testés sont les mono-oxygénases à cytochromes P450 (P450), les glutathion S-transférases (GST), enzymes de biotransformation intervenant dans la détoxification de xénobiotiques, et les acétylcholinestérases. L'impact des substances polluantes telles que le dichloréthane, le trichloréthylène et le tétrachloréthylène a été évalué sur les organismes biologiques dans des enceintes hermétiques en conditions de laboratoire. Ces tests ont été réalisés sur des périodes de 24 et 72 heures avec différentes concentrations de substances toxiques. Les activités enzymatiques des drosophiles exposées ont ensuite été mesurées par des méthodes spectrophotométriques et spectrofluorimétriques. On observe des inductions de l'activité GST et P450 chez les drosophiles exposées à ces trois polluants. Ces augmentations d'activité sont en relation avec la durée d'exposition et la concentration en polluant.

Mots clés : marqueur biologique ; drosophila ; cytochrome P-450 ; glutathione transférases ; acétylcholinestérase ; hydrocarbures halogénés.

Summary. Exposure Biomarkers: The effect of halogenated hydrocarbons on three enzyme systems in *Drosophila pseudoobscura*

Drosophila pseudoobscura were used to study the effect of three atmospheric pollutants (dichloroethane, trichloroethylene, and tetrachloroethylene) on the induction of three enzyme systems: acetylcholinesterases (AChE), P450 monooxygenases (P450), and glutathione S-transferases (GST), the latter two biotransformation enzymes involved in the detoxification of xenobiotics. The effect of the pollutants on the fruit flies was evaluated under laboratory conditions, in a hermetic container, in tests conducted for periods of 24 and 72 hours with various pollutant concentrations. The enzyme activities of the exposed fruit flies were then measured by spectrophotometric and spectrofluorometric methods. GST and P450 activity was induced in *Drosophila* exposed to these three pollutants, at levels related to the pollutant concentration and exposure time.

Key words: biological markers; drosophila; cytochrome P-450; glutathione transferases; acetylcholinesterase; hydrocarbons, halogenated.

Les pollutions occasionnées par les activités agricoles et industrielles induisent généralement une diminution de la biodiversité, une banalisation du milieu, voire même la destruction de certains maillons des écosystèmes.

Le bien-être des populations humaines est assuré par le développement économique et social, mais celui-ci est souvent en contradiction avec les principes de conservation de la nature. Consciente de ce problème, la politique intègre de plus en plus la

composante de l'environnement pour assurer un développement durable. Dans cette optique, les études écotoxicologiques permettent d'évaluer et de prédire les effets à court terme et/ou à long terme des pollutions chimiques sur la santé de l'environnement.

Les principales pollutions chimiques de l'atmosphère des villes auxquelles sont exposés les citoyens sont connues et citées dans la directive-cadre de l'Union européenne. Il s'agit des molécules dépendantes de la chimie minérale (As, Ni, Cd, Hg, etc.), de dérivés (SO_2 , NO, NO_2 , NO_x , CO, etc.), de l'ozone (O_3) et de polluants organiques tels que le benzène ou les hydrocarbures halogénés. L'origine de ces pollutions est multiple : trafic automobile, activités industrielles, agricoles ou de loisirs... Un rapide bilan montre qu'il existe plusieurs milliers de molécules polluantes [1].

Les moyens les plus utilisés pour détecter ces pollutions reposent sur des méthodes physico-chimiques. Les différents composants des échantillons collectés sont séparés (HPLC, CPG...) puis identifiés (spectrographie IR, spectrométrie de masse...). Des capteurs analyseurs automatisés peuvent également être utilisés. Toutefois, ces capteurs présentent quelques imperfections. Bien que ces systèmes détectent les polluants majeurs, la diversité des molécules analysées est relativement faible par rapport à l'ensemble des polluants potentiels auxquels peuvent être soumis les riverains. De toutes façons, on est encore loin des connaissances qui vont permettre de passer des doses enregistrées aux effets biologiques aigus de mélanges de produits et, encore plus, aux effets chroniques à long terme. Des travaux récents ont montré que l'induction de systèmes enzymatiques comme les mono-oxygénases à cytochrome P450 sont corrélés à un effet carcinogène des substances xénobiotiques [2].

Aux systèmes d'analyses physico-chimiques, il est intéressant d'associer d'autres outils d'évaluation comme les biomarqueurs d'exposition (estérases, mono-oxygénases à cytochrome P450, glutathion S-transférases...). En effet, la cible finale d'une pollution est toujours la cible biologique. Il est donc difficile d'estimer et de prédire les effets d'une molécule sur l'environnement sans en connaître les conséquences biologiques.

Les acétylcholinestérases, les mono-oxygénases à cytochrome P450 et les glutathion S-transférases sont trois systèmes enzymatiques présents chez les insectes. L'acétylcholinestérase (AChE) intervient dans la transmission de l'influx nerveux. Cette enzyme est connue pour être inhibée par les insecticides organophosphorés ou les carbamates [3]. Les systèmes mono-oxygénases à cytochrome P450 (P450) jouent également un rôle important dans l'organisme. Ils interviennent non seulement dans la métabolisation de substances endogènes telles que les acides gras ou les hormones, mais aussi dans la métabolisation de xénobiotiques. Chez la *Drosophila melanogaster*, ces enzymes sont connues pour être induites ou inhibées par de nombreux composés [4-6]. Le troisième système enzymatique étudié dans ce travail est l'enzyme glutathion S-transférase. Tout comme les P450, ces enzymes interviennent dans la métabolisation des xénobiotiques. Les GST sont plus particulièrement impliquées dans les réactions de conjugaison avec l'ion glutathion fournissant aux xénobiotiques un caractère plus hydrophyle qui facilite leur élimination hors de l'organisme [7]. Des études effectuées sur différents insectes ont montré que l'activité des ces enzymes

est induite par des phytotoxines [8], des phénols [9] et des insecticides [10].

Dans notre étude, la drosophile *Drosophila pseudoobscura* a été mise en contact avec trois hydrocarbures halogénés volatils d'origine industrielle : le trichloréthylène (CAS 79016), le dichloréthane (CAS 107062) et le tétrachloréthylène (CAS 127184). Les activités des trois systèmes enzymatiques préalablement cités ont ensuite été mesurées par spectrofluorimétrie ou spectrophotométrie, afin d'évaluer l'impact de ces polluants sur la drosophile.

Le dichloréthane, le trichloréthylène et le tétrachloréthylène, tous trois d'origine industrielle, peuvent avoir des effets nocifs sur la santé à trop fortes concentrations. Leurs effets sont ressentis au niveau du système nerveux central, du foie ou des reins.

- Le trichloréthylène est employé dans le monde entier comme dégraissant des métaux. L'utilisation pour de nombreuses applications en Europe de l'Ouest, au Japon et aux États-Unis en 1990 est à la base de la production et de la mise sur le marché d'environ 225 000 tonnes de cet hydrocarbure halogéné. Ce composé a été classé par le CIRC dans le groupe 2A, probablement cancérigène pour l'homme. Le trichloréthylène, inexistant à l'état naturel, est maintenant largement répandu dans l'environnement. Il a été détecté dans l'air, l'eau, le sol, la nourriture, les animaux, le sang humain et même le lait maternel [11-15].

Au niveau atmosphérique, des données collectées dans la ville de Hambourg, en Allemagne, ont montré des concentrations de trichloréthylène comprises entre 0,8 à 18,5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ d'air ambiant [14]. Une autre étude réalisée en Finlande a relevé des niveaux de 0,27 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ en zone suburbaine et de 36 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ en zone industrielle [15]. Cependant, c'est généralement sur les sites de production et d'utilisation du trichloréthylène que les expositions sont les plus importantes, avec des concentrations moyennes journalières de moins de 50 à 100 ppm [16]. L'OSHA (*Occupational Safety & Health Administration*) tolère des expositions journalières de 8 heures jusqu'à 100 ppm avec une valeur plafond de 300 ppm ou 1 608 mg/m^3 à ne pas dépasser plus de 5 minutes toutes les 2 heures. Le *National Institute for Occupational Safety and Health* (NIOSH) a défini la concentration de 1 000 ppm ou 5 037 mg/m^3 comme valeur IDLH (*immediately dangerous for life or health*) [17].

- Le 1,2-dichloréthane, utilisé principalement dans la production du chlorure de vinyle, comme dégraissant métallique et dans le nettoyage à sec, est classé, d'après le CIRC, comme un composé de la classe 2B, ce qui signifie « peut être considéré comme cancérigène pour l'homme ». Le dichloréthane a été détecté dans l'air, l'eau, les sédiments et certains aliments [18-23]. L'OSHA tolère des limites d'exposition de 50,5 ppm pour un travail de 8 h/jour ou 40 h/semaine avec une valeur seuil de 81 ppm ou 405 mg/m^3 .

- Les groupes exposés à des concentrations élevées de tétrachloréthylène comprennent principalement les employés des magasins et d'usines de nettoyage à sec. La population vivant près de ces établissements peut également être exposée à des concentrations plus élevées que le reste de la communauté. Le tétrachloréthylène est absorbé par la peau, en contact direct, et par l'intermédiaire des poumons, après inhalation. Ce composé est classé, d'après le CIRC, dans la classe 2A. La concentration en

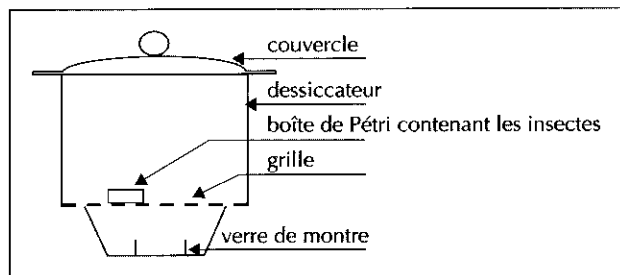


Figure 1. Dispositif expérimental.

tétrachloréthylène tolérée par l'OSHA est de 100 ppm lors d'activité journalière de 8 heures avec une valeur de 300 ppm ou 2 034 mg/m³ à ne pas dépasser plus de 5 minutes toutes les 3 heures. La valeur IDLH est fixée à 150 ppm.

Matériel et méthode

Insecte

Drosophila pseudoobscura est élevée en conditions standardisées à 25 ° ± 1 °C avec une photopériode de 12 heures. L'élevage des drosophiles se pratique sur des milieux artificiels à base d'agar, de farine de maïs, de levure de bière, de méthoxybenzoate de sodium et d'eau.

Test d'exposition des insectes aux substances volatiles

Deux cents drosophiles adultes sont placées dans une boîte de Pétri aérée à raison de trois répétitions dans une enceinte hermétique d'un volume de 750 mL (figure 1). Un hydrocarbure halogéné (dichloréthane, trichloréthylène ou tétrachloréthylène) est ensuite déposé au fond du dessiccateur. Pour chaque substance volatile, trois concentrations sublétales pour *Drosophila pseudoobscura* ont été testées. Les insectes sont mis en contact avec les trois substances volatiles pendant 24 et 72 heures à 22 °C, sous une photopériode de 12 heures et une petite quantité de milieu nutritif. Pour chaque substance testée, un témoin est mesuré en parallèle. Celui-ci est réalisé en plaçant deux cents drosophiles adultes en boîte de Pétri aérée dans une enceinte hermétique d'un volume de 750 mL en l'absence d'hydrocarbure halogéné. Les insectes sont tués immédiatement en fin de test par immersion dans de l'azote liquide.

Mesure des activités enzymatiques

Dosage des glutathion S-transférases (GST)

Cinquante milligrammes de drosophiles adultes décapitées dans de l'azote liquide, sont broyées dans 500 µL de tampon phosphate pH 6,8. L'homogénat est ensuite centrifugé pendant 15 minutes à 10 000 G, à une température de 4 °C. La teneur en protéines de l'échantillon est mesurée par la méthode de Bradford à partir d'une droite d'étalonnage élaborée avec des solutions de BSA [24]. L'activité enzymatique est mesurée sur un spectrophotomètre d'absorption moléculaire UV/visible

Shimadzu UV-160 A, à 340 nm, grâce à la formation d'un chromophore, produit de la conjugaison de GSH et du CDNB. La réaction est réalisée à 25 °C. Le mélange réactionnel est composé de 100 µL de GSH 10 mM, 25 µL de CDNB 20 mM, 1 mL de tampon phosphate pH 6,8, 100 µL de surnageant. La solution est mélangée et finalement mesurée après 40 secondes.

Dosage des mono-oxygénases à cytochrome P450 (P450)

Cent milligrammes de drosophiles adultes décapitées dans de l'azote liquide sont broyées dans 2 mL de tampon phosphate de sodium pH 7,2, 50 mM contenant 1 mM d'EDTA, 0,4 mM de PMSF et 0,1 mM de dithiothréitol. L'homogénat est ensuite centrifugé 15 minutes à 10 000 G, à la température de 4 °C. La teneur en protéines est déterminée par la méthode de Bradford. Cinq cents microlitres de mélange réactionnel contenant 500 µg de protéines totales, 5 µL de 7 éthoxycoumarine 20 mM, 12,5 µL de NADPH 40 mM et du tampon phosphate pH 7,2, 50 mM sont incubés 30 minutes à 30 °C. La réaction est ensuite arrêtée par l'ajout de 1 500 µL d'acétate d'éthyl. Après une centrifugation pendant 1 minute à 10 000 G, 75 µL de la phase organique supérieure sont récupérés et ajoutés à 375 µL de tampon glycine pH 10,4 et 375 µL d'éthanol. La mesure de fluorescence est ensuite réalisée à une longueur d'onde de 380 nm d'excitation, 480 nm d'émission au moyen d'un spectrofluorimètre Shimadzu 1502. Une droite d'étalonnage est préalablement établie en utilisant, comme solution de référence, le 7-hydroxycoumarine.

Dosage des acétylcholinestérases (AChE)

Cette mesure repose sur la réaction de la thiocholine avec le DNTB (acide 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoïque)). Cette réaction produit une coloration jaune proportionnelle à l'activité de l'enzyme présente. Cinquante milligrammes de drosophiles adultes entières sont broyées dans 500 µL de tampon phosphate pH 6,8, contenant du Triton X-100 (1 % p/v). L'homogénat est ensuite centrifugé 15 minutes à 10 000 G et à 4 °C. Le mélange réactionnel est composé de 50 µL d'extrait, 10 µL d'une solution DNTB, 10 µL de chlorure d'acétylthiocholine 0,1 M, 930 µL de tampon Tris-HCl pH 8,5. La réaction enzymatique est réalisée à 25 °C. Après 1 minute d'incubation, l'activité enzymatique est mesurée sur un spectrophotomètre d'absorption moléculaire UV/visible Shimadzu UV-160 A, à une longueur d'onde de 412 nm.

Résultats et discussion

Les drosophiles exposées à ces trois hydrocarbures halogénés réagissent en modifiant l'activité de certains systèmes enzymatiques. Les mono-oxygénases à cytochrome P450 sont sensibles à ces substances polluantes présentes dans l'atmosphère. L'activité enzymatique des mono-oxygénases à cytochrome P450 est induite par le dichloréthane, le trichloréthylène et le tétrachloréthylène. L'intensité des inductions est fonction de la concentration du composé testé et de la durée d'exposition.

Les drosophiles soumises au dichloréthane montrent des inductions de leur activité P450 aux concentrations testées. Lors

Tableau 1. Activités des mono-oxygénases à cytochrome P450 (ng de 7 hydroxycoumarine formé) d'individus adultes de *Drosophila pseudoobscura* exposés à trois hydrocarbures halogénés volatils pendant 24 et 72 heures.

Substance	Concentration (en g/m ³)	P450 (ng de 7OH formé)	
		24 h	72 h
Trichloréthylène	0	1,80 ± 0,52 ¹	1,98 ± 0,46 ^A
	0,97	0,78 ± 0,68 ¹	1,55 ± 0,36 ^A
	1,95	11,70 ± 0,49 ³	3,91 ± 0,89 ^B
	3,90	7,97 ± 0,43 ²	6,53 ± 0,55 ^C
Dichloréthane	0	1,80 ± 0,52 ¹	1,98 ± 0,46 ^A
	0,83	2,80 ± 0,44 ¹	4,97 ± 0,31 ^B
	1,67	5,20 ± 0,55 ²	4,66 ± 0,56 ^B
	3,35	2,12 ± 1,30 ¹	3,18 ± 0,33 ^A
Tétrachloréthylène	0	1,80 ± 0,52 ¹	1,98 ± 0,46 ^{AB}
	1,08	2,25 ± 0,29 ¹	1,59 ± 0,14 ^A
	2,16	5,51 ± 0,11 ²	1,82 ± 0,22 ^A
	4,32	ND	2,63 ± 0,24 ^B

À chaque période d'exposition et pour chaque hydrocarbure, les résultats suivis d'une lettre ou d'un chiffre différent sont significativement différents (test t de Student, P = 0,05).

de nos expérimentations, le maximum d'activité apparaît après 24 heures à la concentration de 1,67 g/m³ ; après 72 heures, l'activité P450 des insectes croît, en fonction de la concentration en dichloréthane, de 160 à 251 % par rapport à l'activité des drosophiles témoins (tableau 1). Rodriguez étudia la métabolisation du dichloréthane chez plusieurs souches de *Drosophila melanogaster* où il mit en évidence des inductions de l'activité des mono-oxygénases à cytochrome P450 chez les souches résistantes aux insecticides [25].

Chez les drosophiles exposées au tétrachloréthylène, après 24 heures, l'activité P450 est induite respectivement de 125 et 206 % aux concentrations de 1,08 et 2,16 g/m³. Les activités P450 atteignent ainsi un seuil maximum, qui durant les 48 heures suivantes, va décroître progressivement. Ces diminutions d'activité sont accompagnées d'une mortalité accrue. Les insectes mis en contact avec le trichloréthylène vont réagir de manière plus ou moins comparable au tétrachloréthylène ; après une période d'exposition de 24 heures, on observe des inductions importantes de l'activité P450 (de l'ordre de 440 % à 650 %) aux concentrations de 1,95 et 3,90 µg/m³. Ces niveaux d'activité sont respectivement 6 et 4 fois supérieurs aux activités P450 des drosophiles témoins. Après 72 heures d'exposition, l'induction de l'activité des P450 reste importante mais inférieure à celles mesurées le premier jour (tableau 1).

Les effets du tétrachloréthylène et du trichloréthylène sur les enzymes de biotransformation ont été étudiés chez les rats. L'administration par voie orale du tétrachloréthylène ou du trichloréthylène à des individus mâles pour une période de 5 jours a permis de mettre en évidence une augmentation de l'activité des mono-oxygénases à cytochrome P450. L'induction maximale (quatre et six fois au-dessus de la valeur de l'activité des individus témoins) fut observée respectivement à la dose de

Tableau 2. Activités des acétylcholinestérases (µU/mg protéine) d'individus adultes de *Drosophila pseudoobscura* exposés à trois hydrocarbures halogénés volatils pendant 24 et 72 heures.

Substance	Concentration (en g/m ³)	Activité AChE (µU/mg protéine)	
		24 h	72 h
Trichloréthylène	0	0,078 ± 0,004 ²	0,068 ± 1,000 ^A
	0,97	0,092 ± 0,001 ³	0,055 ± 0,803 ^A
	1,95	0,066 ± 0,005 ^{1,2}	0,053 ± 0,782 ^A
	3,90	0,060 ± 0,005 ¹	0,051 ± 0,747 ^A
Dichloréthane	0	0,078 ± 0,004 ¹	0,068 ± 1,000 ^A
	0,83	0,090 ± 0,005 ²	0,058 ± 0,005 ^A
	1,67	0,093 ± 0,006 ²	0,061 ± 0,001 ^A
	3,35	0,096 ± 0,002 ²	0,064 ± 0,005 ^A
Tétrachloréthylène	0	0,078 ± 0,004 ^{2,3}	0,068 ± 1,000 ^A
	1,08	0,078 ± 0,001 ³	0,056 ± 0,001 ^A
	2,16	0,072 ± 0,001 ²	0,053 ± 0,002 ^A
	4,32	0,059 ± 0,003 ¹	0,067 ± 0,016 ^A

À chaque période d'exposition et pour chaque hydrocarbure, les résultats suivis d'une lettre ou d'un chiffre différent sont significativement différents (test t de Student, P = 0,05).

1 200 mg/kg de trichloréthylène et de 2 000 mg/kg de tétrachloréthylène [26].

En présence d'hydrocarbures halogénés, *Drosophila pseudoobscura* réagit par l'induction des glutathion S-transférases. Chez les drosophiles exposées 72 heures au dichloréthane, on observe des inductions d'activités croissantes en fonction de la concentration. Une augmentation d'activité GST de 116 % apparaît dans les enceintes contenant 0,83 g/m³ de dichloréthane, 141 % aux concentrations de 1,67 g/m³ et 149 % à 3,35 g/m³ (tableau 2). Peu de données existent concernant le rôle de ce système enzymatique dans la métabolisation des hydrocarbures halogénés ; toutefois, Lash *et al.* montrent que les glutathion S-transférases sont impliqués dans la métabolisation du trichloréthylène entraînant la formation du glutathion de S-1,2-dichlorovinyl néphrotoxique chez le rat [27].

L'analyse des résultats repris dans le tableau 3 montre que les trois hydrocarbures halogénés testés ne provoquent aucune inhibition de l'activité des acétylcholinestérases après 72 heures.

Au terme de cette étude, nous pouvons conclure que deux systèmes enzymatiques (P450 et GST) de *Drosophila pseudoobscura* sont activés lors d'exposition au dichloréthane, au trichloréthylène et au tétrachloréthylène. Au cours des essais, les drosophiles ont été soumises à des doses élevées ou à des concentrations de maximums conseillés sur sites industriels. L'organisme réagit à ces concentrations par des inductions des systèmes enzymatiques mono-oxygénases à cytochrome P450 et glutathion S-transférases, car ces enzymes de biotransformation permettent de métaboliser de nombreuses substances toxiques, facilitant ainsi leur élimination hors de l'organisme. La réponse biologique des *Drosophila pseudoobscura* pourrait donc être similaire à celle des mammifères. Guengerich *et al.* ont montré que le dichloréthane pouvait être oxydé *via* les cytochromes

Tableau 3. Activités des glutathion S-transférases (nmole de GSH conjugué/min/ μ g protéine) d'individus adultes de *Drosophila pseudoobscura* exposés à trois hydrocarbures halogénés volatils pendant 24 et 72 heures.

Substance	Concentration (en g/m ³)	Activité GST (nmole de GSH conjugué/min/ μ g protéine)	
		24 h	72 h
Trichloréthylène	0	62,16 \pm 8,70 ¹	58,98 \pm 1,00 ^B
	0,97	57,42 \pm 2,42 ¹	49,86 \pm 0,85 ^A
	1,95	66,85 \pm 2,26 ¹	63,85 \pm 1,08 ^{BC}
	3,90	52,09 \pm 0,49 ¹	69,17 \pm 1,17 ^C
Dichloréthane	0	62,16 \pm 8,70 ¹	58,98 \pm 1,00 ^A
	0,83	75,87 \pm 2,59 ^{2,3}	68,62 \pm 2,09 ^A
	1,67	72,71 \pm 6,11 ²	83,15 \pm 5,97 ^B
	3,35	80,49 \pm 3,54 ³	87,98 \pm 13,34 ^B
Tétrachloréthylène	0	62,16 \pm 8,70 ²	58,98 \pm 1,00 ^B
	1,08	63,36 \pm 11,56 ²	56,49 \pm 1,04 ^{AB}
	2,16	73,24 \pm 5,31 ^{2,3}	48,64 \pm 6,18 ^A
	4,32	42,64 \pm 3,51 ¹	53,41 \pm 4,00 ^{AB}

À chaque période d'exposition et pour chaque hydrocarbure, les résultats suivis d'une lettre ou d'un chiffre différent sont significativement différents (test t de Student, P = 0.05).

P450 et entraîner la formation de 2-chloracétaldéhyde et 2-chloréthanol, deux molécules solubles dans les urines [28].

Chez les rats et les souris, le trichloréthylène est métabolisé principalement par la voie des cytochromes P450, avec la production finale de trichloréthanol et d'acide trichloracétique également détectable au niveau urinaire [29].

L'intérêt de l'étude de l'induction ou de l'inhibition de l'activité des systèmes enzymatiques, et en particulier des mono-oxygénases à cytochrome P450, comme biomarqueur d'exposition du milieu industriel dépasse la simple réponse biologique que représente l'augmentation de la teneur d'une enzyme. En effet, celle-ci atteste d'une capacité d'adaptation à court terme des organismes aux fluctuations de la qualité chimique du milieu. Cette variation enzymatique peut également être mise en relation avec des processus toxicologiques. Ainsi, un nombre important de données suggère d'une part l'existence de relations entre l'induction des mono-oxygénases à cytochrome P450 et l'altération du métabolisme de molécules endogènes essentielles comme les stéroïdes ; par ailleurs, les mono-oxygénases à cytochrome P450 perturberaient différentes fonctions comme la re-production [7]. ■

1. Leaderer BP, Liou PJ, Spengler JD Assessing exposures to inhaled complex mixtures. *Environ Health Perspect* 1993 ; 101 : 167-77.
2. Celander M, Hahn ME, Stegeman JJ. Cytochromes P450 (CYP) in the *Poeciliopsis lucida* hepatocellular carcinoma cell line (PLHC-1): Dose- and time-dependent glucocorticoid potentiation of CYP1A induction without induction of CYP3A. *Arch Biochem Biophys* 1996 ; 329 : 113-22.
3. Dembélé K, Haubruge E, Gaspar Ch. Recovery of acetylcholinesterase activity in the common carp (*Cyprinus carpio* L.) after inhibition by organophosphate and carbamate compounds. *Bull Environ Contam Toxicol* 1999 ; 62 : 731-42.
4. Fuchs SY, Spiegelman VS, Belitsky GA. Inductibility of various cytochrome P450 isozymes by phenobarbital and some other xenobiotics in *Drosophila melanogaster*. *Biochem Pharmacol* 1994 ; 47 : 1867-73.
5. Cuany A, Helvig C, Amichot M, et al. Fate of a terminal olefin with *Drosophila* microsomes and its inhibitory effects on some P-450 dependent activities. *Arch Insect Biochem Physiol* 1995 ; 28 : 325-38.
6. Amichot M, Brun A, Cuany A, et al. Induction of cytochrome P450 activities in *Drosophila melanogaster* strains susceptible or resistant to insecticides. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* 1998 ; 121 : 311-9.
7. Haubruge E, Amichot M. Compréhension des mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 1998 ; 3 : 184-201.
8. Hung CF, Berenbaum MR, Schuler MA. Isolation and characterization of CYP6B4, a furanocoumarin-inducible cytochrome P450 from a polyphagous caterpillar (Lepidoptera: Papilionidae). *Insect Biochem Mol* 1997 ; 27 : 377-85.

9. Lee K. Glutathione S-transferase activities in phytophagous insects: Induction and inhibition by plant phototoxins and phenols. *Insect Biochem Mol Biol* 1991 ; 21 : 353-62.
10. Gao X, Dong X, Zheng B, Chen Qing. Glutathione S-transferase (GSTs) of *Helicoverpa armigera*: Induction of insecticides and plant allelochemicals and metabolism of insecticides. *Acta Entomologica sinica* 1997 ; 40 : 122-7.
11. Green T. Pulmonary toxicity and carcinogenicity of trichlorethylene: Species differences and modes of action. *Environ Health Perspect* 2000 ; 108 : 261-4.
12. Pellizzari ED, Hartwell TD, Harris BS. Purgeable organic compounds in mother's milk. *Bull Environ Contam Toxicol* 1982 ; 28 : 322-8.
13. Brugnone F, Perbellini L, Giuliani M. Blood and urine concentrations of chemical pollutants in the general population. *Med Lav* 1994 ; 85 : 370-89.
14. Bruckmann P, Kersten W, Funcke W. The occurrence of chlorinated and other organic trace compounds in urban air. *Chemosphere* 1988 ; 17 : 2363-80.
15. Kroneld R. Volatile pollutants in suburban and industrial air. *Bull Environ Contam Toxicol* 1989 ; 42 : 868-72.
16. Santodonato J. *Monograph on human exposure to chemicals in the workplace: Trichlorethylene*. PB86- 134574/GA. Springfield : NTIS, 1985 ; 50 p.
17. National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH). *NIOSH Pocket guide to chemical hazards*. DHEW (NIOSH) Pub. No. 94-116. Washington (DC): U.S. Department of Health and Human Services; Public Health Service; Centers for Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health 1997 ; 466 p.

18. Clark AI, McIntyre AE, Lester JN, Perry R. Ambient air measurement of aromatic and halogenated hydrocarbons at urban, rural, and motorway locations. *Sci Total Environ* 1984 ; 39 : 265-79.
19. Clark AI, McIntyre AE, Perry R, Lester JN. Monitoring and assessment of ambient atmospheric concentrations of aromatic and halogenated hydrocarbons at urban, rural, and motorway locations. *Environ Pollut* 1984 ; 7 : 141-58.
20. Guicherit R, Schulting FL. The occurrence of organic chemicals in the atmosphere of the Netherlands. *Sci Total Environ* 1985 ; 43 : 193-219.
21. Van Luin AB, van Starckenburg W. Hazardous substances in waste water. *Water Sci Technol* 1984 ; 17 : 843-53.
22. Kliest J, Fast T, Boley JS, van de Wiel H, Bloemen H. The relationship between soil contaminated with volatile organic compounds and indoor air pollution. *Environ Int* 1989 ; 15 : 419-25.
23. Bauer U. Human exposure to environmental chemicals - Investigations on volatile organic halogenated compounds in water, air, food, and human tissues. III. Communication: Results of investigations. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg* 1981 ; 174 : 200-37.
24. Bradford M. A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976 ; 72 : 248-54.
25. Rodríguez-Arnaiz R. Biotransformation of several structurally related 2B compounds to reactive metabolites in the somatic w/w + assay of *Drosophila melanogaster*. *Environ Mol Mutagen* 1998 ; 31 : 390-401.
26. Hanioka N, Jinno H, Toyooka T, Nishimura T, Ando M. Induction of rat liver drug-metabolizing enzymes by tetrachloroethylene. *Arch Environ Contam Toxicol* 1995 ; 28 : 273-80.
27. Lash LH, Qian W, Putt DA, et al. Glutathione conjugation of trichloroethylene in rats and mice: Sex-, species-, and tissue-dependent differences. *Drug Metab Dispos* 1998 ; 26 : 12-9.
28. Guengerich FP, Crawford WM, Domoradzki JY, MacDonald TL, Watanabe PG. *In vitro* activation of 1,2-dichloroethane by microsomal and cytosolic enzymes. *Toxicol Appl Pharmacol* 1980 ; 55 : 303-17.
29. Green T, Dow J, Ellis MK, Foster JR, Odum J. The role of glutathione conjugation in the development of kidney tumours in rats exposed to trichloroethylene. *Chem Biol Interact* 1997 ; 105 : 99-117.