

RESUME

Les herbicides, y compris le glyphosate, sont les pesticides les plus utilisés dans le monde. Leurs utilisations ont augmenté de façon exponentielle depuis leur introduction sur le marché. Les niveaux de résidus dans les aliments ou l'eau, ainsi que les expositions humaines sont en augmentation. En effet, l'exposition en permanence au glyphosate reste un grand problème qui menace la santé humaine en particulier lors des périodes critiques de développement. Ainsi, la contamination par le glyphosate peut avoir des effets indésirables sur le développement de l'organisme et surtout sur le développement cérébral.

L'objet de la présente étude est d'évaluer la toxicité et la neurotoxicité du glyphosate à de faibles doses (0,5, 14, 25, 50mg/l) chez la souris. Ces doses sont administrées aux souris durant la période de gestation, de l'allaitement et jusqu'au stade adulte. Pendant cette phase d'intoxication nous avons étudié le statut antioxydant dans les organes cibles tels que le cerveau, le foie, les reins et les testicules. Une étude de comportement a été réalisée en parallèle.

Au niveau cérébral, nos résultats ont montré une augmentation de la peroxydation lipidique, une dérégulation des enzymes anti oxydantes (SOD, GPX, GST et CAT), une inhibition de l'acétylcholinestérase qui serait à l'origine du changement dans le développement des réflexes, de l'activité motrice et les anomalies comportementales liées à l'anxiété et à la mémoire chez les souriceaux traités par de faibles doses du glyphosate et à l'âge adulte.

Au niveau périphérique, le glyphosate a induit un stress oxydatif dans le foie et les reins chez les souriceaux et au stade adulte suite un taux élevé de la peroxydation lipidique et une instabilité de réponse de la défense du système antioxydant, témoignant d'un effet toxique sur le système de détoxification. Nos résultats au niveau testiculaire ont montré que le glyphosate a engendré une augmentation de la peroxydation lipidique et une dérégulation des enzymes anti oxydantes chez les souris adultes traitées. Ceci pourrait induire un effet toxique et des perturbations de la reproduction.

Nous pouvons aussi conclure que le glyphosate exerce sa neurotoxicité en perturbant le système cholinergique (inhibition de l'AChE) et en altérant le statut antioxydant au niveau des différentes structures cérébrales.

Mots clés : GLP, cerveau, neurotoxicité, mémoire, acétylcholinestérase, anxiété, stress oxydatif, enzymes antioxydants et le système de détoxification.

N° d'ordre : 445/22

Etude de la toxicité développementale du glyphosate au niveau central et périphérique chez la souris

ANARGHOU HAMMOU

Centre d'Études Doctorales : Sciences et Techniques

Formation Doctorale : **Ressources Naturelles, Environnement ET Santé****THÈSE**

Présentée par

ANARGHOU HAMMOU

Pour l'obtention du grade de

DOCTEURDiscipline : **Biologie**Spécialité : **Physiologie Animale-Toxicologie et Santé**

« Etude de la toxicité développementale du glyphosate au niveau central et périphérique chez la souris ».

Soutenue le Jeudi 07 Juillet 2022 à 10h devant la commission d'examen :

Pr. Youssef Aboussaleh	: Professeur, Université Ibn Tofail, FS kénitra, Maroc	Président/Rapporteur
Pr. Ahmed O.T Ahami	: Professeur, Université Ibn Tofail, FS kénitra, Maroc	Rapporteur
Pr. Samira Boulbaroud	: Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, FP Béni-Mellal, Maroc	Rapporteur
Pr. Merzouki Mohamed	: Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, FST Béni-Mellal, Maroc	Examineur
Pr. Fatiha CHIGR	: Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, FST Béni-Mellal, Maroc	Directeur de thèse

Remerciements

Je ne peux commencer ce document, sans dire un grand merci à Dieu, Maître de l'Univers. J'exprime toute ma reconnaissance :

- à ma Directrice de thèse Madame **Fatiha CHIGR**, Professeur d'enseignement supérieur à la faculté des sciences et techniques de l'Université Sultan Moulay Slimane (USMS), pour m'avoir encadré depuis mes années de doctorat, pour ses conseils, son appui financier et aussi de m'avoir accordée sa confiance.

-à Monsieur **Mohamed NAJIMI**, Professeur d'enseignement supérieur à la faculté des sciences et techniques de l'Université Sultan Moulay Slimane (USMS) qui m'a Co encadré pour l'élaboration de ce travail, soit assuré de ma profonde gratitude, pour ses conseils avisés et pour toute l'attention particulière qu'il a porté.

- aux membres du comité de thèse qui ont suivi l'évolution de mes travaux de recherches. Il s'agit principalement du Professeur de la Faculté Polydisciplinaire de Béni Mellal Madame **Samira Boulbaroud** ; Professeur de la Faculté des Sciences de Kenitra Monsieur **Ahmed O.T Ahami** et du Professeur Enseignant chercheur à l'Université Ibn Tofail Monsieur **Youssef Aboussaleh**. Un grand merci au Monsieur **Merzouki Mohamed**, Enseignant chercheur à la faculté des sciences et techniques de l'Université Sultan Moulay Slimane (USMS), pour son soutien et ses conseils. Je tiens à remercier également Monsieur **Ait Chaoui Ahmed** Enseignant chercheur à la faculté des sciences et techniques de l'Université Sultan Moulay Slimane (USMS) pour ses conseils.

L'occasion m'est offerte pour remercier chaleureusement les personnes que j'ai côtoyé tout le long séjour au laboratoire : Hafsa MALQUI, Fatima zohra OUARDI, Nabila OUASMI, Ben yamine MALLOUKI, Nouhaila CHAOUI, Oumaima ESSAIDI, Laila BERROUG, Meriem LAAROUSSI.

Mes remerciements vont également à mes amis, surtout Mohamed MEKKAOUI, Abdelaziz LAMNAA, Said IHBOUR, Chetoui Ahmed, Hicham RAHMI, Abdelmounaim BOULHANNA, Moulay Mehdi BARRAH, pour leurs conseils et soutiens.

Je remercie enfin tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de cette thèse.

*La vie est éphémère, mais le souvenir
d'un être cher reste. Vous étiez un
modèle, un brio inlassable pour la
réussite des étudiants. Un peu de toi
continuera à vivre dans chacun de
nous.*



Merci

اللهم ارحم أستاذي الغالي ونور قبره كما أنار طريقي وساعدني... كم
أشتاق اليك والى نصائحك يا أعظم استاذ و ابا لطلابيه.

اللهم ارحمه واغفرله وآنس وحشته ووسع قبره اللهم اجعل عيده في
الجنة أجمل.

اللهم ارحمه رحمةً تسع السماوات والارض اللهم اجعل قبره في نور
دائم لا ينقط واجعله في جنتك آمناً مطمئناً يارب العالمين.

Résumé

Les herbicides, y compris le glyphosate, sont les pesticides les plus utilisés dans le monde. Leurs utilisations ont augmenté de façon exponentielle depuis leur introduction sur le marché. Les niveaux de résidus dans les aliments ou l'eau, ainsi que les expositions humaines sont en augmentation. En effet, l'exposition en permanence au glyphosate reste un grand problème qui menace la santé humaine en particulier lors des périodes critiques de développement. Ainsi, la contamination par le glyphosate peut avoir des effets indésirables sur le développement de l'organisme et surtout sur le développement cérébral.

L'objet de la présente étude est d'évaluer la toxicité et la neurotoxicité du glyphosate à de faibles doses (0,5, 14, 25, 50mg/l) chez la souris. Ces doses sont administrées aux souris durant la période de gestation, de l'allaitement et jusqu'au stade adulte. Pendant cette phase d'intoxication nous avons étudié le statut antioxydant dans les organes cibles tels que le cerveau, le foie, les reins et les testicules. Une étude de comportement a été réalisée en parallèle.

Au niveau cérébral, nos résultats ont montré une augmentation de la peroxydation lipidique, une dérégulation des enzymes anti oxydantes (SOD, GPX, GST et CAT), une inhibition de l'acétylcholinestérase qui serait à l'origine du changement dans le développement des réflexes, de l'activité motrice et les anomalies comportementales liées à l'anxiété et à la mémoire chez les souriceaux traités par de faibles doses du glyphosate et à l'âge adulte.

Au niveau périphérique, le glyphosate a induit un stress oxydatif dans le foie et les reins chez les souriceaux et au stade adulte suite un taux élevé de la peroxydation lipidique et une instabilité de réponse de la défense du système antioxydant, témoignant d'un effet toxique sur le système de détoxification. Nos résultats au niveau testiculaire ont montré que le glyphosate a engendré une augmentation de la peroxydation lipidique et une dérégulation des enzymes anti oxydantes chez les souris adultes traitées. Ceci pourrait induire un effet toxique et des perturbations de la reproduction.

Nous pouvons aussi conclure que le glyphosate exerce sa neurotoxicité en perturbant le système cholinergique (inhibition de l'AChE) et en altérant le statut antioxydant au niveau des différentes structures cérébrales.

Mots clés : GLP, cerveau, neurotoxicité, mémoire, acétylcholinestérase, anxiété, stress oxydatif, enzymes antioxydants et le système de détoxification.

Abstract

Herbicides, including glyphosate, are the most widely used pesticides in the world. Their use has increased exponentially since their introduction to the market. Residue levels in food and water, as well as human exposure, are increasing. Indeed, continuous exposure to glyphosate remains a major problem that threatens human health, especially during critical developmental periods. Thus, glyphosate contamination can have adverse effects on the development of the body and especially on brain development.

The present study aims to evaluate the toxicity and neurotoxicity of glyphosate at low doses (0,5,14, 25, 50mg/l) in mice. These doses are administered to mice during the gestation period, lactation, and up to the adult stage. During this phase of intoxication, we studied the antioxidant status in target organs such as the brain, liver, kidney, and testicle. A behavioral study was carried out in parallel.

At the brain level, our results showed an increase in lipid peroxidation, deregulation of anti-oxidant enzymes (SOD, GPX, GST, and CAT), an inhibition of acetylcholinesterase which would be at the origin of the change in the development of reflexes, motor activity and behavioral abnormalities related to anxiety and memory in pups treated with low doses of glyphosate and as adults.

At the peripheral level, glyphosate induced oxidative stress in the liver and kidney of pups and the adult stage following an elevated level of lipid peroxidation and instability of the antioxidant system defense response, indicating a toxic effect on the detoxification system. Our results at the testicular level showed that glyphosate induced an increase in lipid peroxidation and deregulation of anti-oxidant enzymes in treated adult mice. This could induce a toxic effect and disturbances of reproduction.

We can also conclude that glyphosate exerts its neurotoxicity by disrupting the cholinergic system (inhibition of AChE) and by altering the antioxidant status at the level of different brain structures.

Keywords: GLP, brain, neurotoxicity, memory, acetylcholinesterase, anxiety, oxidative stress, antioxidant enzymes, and the detoxification system.

Liste des abréviations

GLP : Glyphosate

AChE : Acétylcholinestérase

BChE : Butyrylcholinestérase

SOD : Superoxyde Dismutase

GPx : Glutathion Peroxydase

GST : Glutathion S-Transférase

CAT : Catalase

MDA : Malondialdehyde

ERO : Espèces réactives d'oxygène

AMPA : Acide aminométhylphosphonique

IUPAC : Union Internationale de chimie pure et appliquée

DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane

OP : Organophosphorés

EPSPS : Enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase

PEP : Phosphoénolpyruvate

EPA : Agence de la protection de l'environnement

GBH : herbicides à base de glyphosate

GR : Glutathione réductase

ALAT : Alanine aminotransférase

ASAT : Alanine Aspartate Transférase

γ -GT : Glutamyltransférase

VGM : Volume globulaire moyen

PN : jour postnatale

GABA : Acide gamma-aminobutyrique

NMDA : N-methyl-D-aspartate

SNC : système nerveux central

POP : Polluants organiques persistants

ERN : Espèces réactives de l'azote

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

NOS : Oxyde nitrique synthase

AGPI : Acide gras polyinsaturés

GSH : glutathion réduit

GSSG : disulfure de glutathion

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

TCA : Trichloracétique

TBA : Acide thiobarbiturique

ROS : Espèces réactives oxygénées (Reactive Oxygen Species)

EDTA: Ethylenediaminetetraacetic Acid

RO°: Radical alkoxy

ROH: Alcool

ROO°: Radical peroxy

ROOH: Hydroperoxyde

OH° : Radicale hydroxyle

O₂° : Anion superoxyde

Liste des publications

- ✓ Ouardi, F. Z., **Anarghou, H.**, Malqui, H., Ouasmi, N., Chigr, M., Najimi, M., & Chigr, F. (2019). Gestational and lactational exposure to malathion affects antioxidant status and neurobehavior in mice pups and offspring. *Journal of Molecular Neuroscience*, 69(1), 17-27.
- ✓ Malqui, H., **Anarghou, H.**, Ouardi, F. Z., Ouasmi, N., Najimi, M., & Chigr, F. (2018). Continuous exposure to inorganic mercury affects neurobehavioral and physiological parameters in mice. *Journal of Molecular Neuroscience*, 66(2), 291-305.
- ✓ **Anarghou, H.**, Jandou, I., Ibour, S., Boulhanna, A., Aboutaieb, R., & Merzouki, M. (2021). The Immune System Dysregulation During Covid-19. *International Journal of Psychosocial Rehabilitation*, 25(02).
- ✓ Chaoui, N., **Anarghou, H.**, Laaroussi, M., Essaidi, O., Najimi, M., & Chigr, F. (2022). Long lasting effect of acute restraint stress on behavior and brain anti-oxidative status. *AIMS neuroscience*, 9(1), 57.
- ✓ Ibour, S., **Anarghou, H.**, Boulhana, A., Najimi, M., & Chigr, F. (2021). Mental health among students with neurodevelopment disorders: case of dyslexic children and adolescents. *Dementia & Neuropsychologia*, 15, 533-540.

Liste des communications

Communications orales :

- ✓ **Anarghou Hammou**; Malqui Hafsa; Ibour said; Boulhanna Abdelmounaim; Najimi Mohamed; Chigr Fatiha, Health effects of the glyphosate herbicide, 1ST INTERNATIONAL CONGRESS ON PURE AND APPLIED SCIENCES ICPAS 21' (2021).
- ✓ Abdelmounaim Boulhanna, **Hammou Anarghou**, Marouane Maamouri, Fatiha Chigr, Mohamed Najimi. Anthropometric indicators (imc), eating habits and sedentary behavior of school children in the beni mellal khenifra region (morocco) relative to age, gender and area of residence(urban-rural). 1ST INTERNATIONAL SCIENTIFIC DAY OF TAROUDANNT [ISDT 2018].
- ✓ EL Hammioui Youssef; **Anarghou Hammou**; Idrissi Imam; Laiboudi Chaimae; Boumalgha Oumaima; Elhamdouni Driss; Khafou Mhamed; Abba Elhasan,

Evaluation of the bacteriological quality of groundwater used by the rural population of the province of khénifra (Béni Mellal-khénifra Region Morocco) 1ST INTERNATIONAL CONGRESS ON PURE AND APPLIED SCIENCES ICPAS 21' (2021).

- ✓ A.Boulhanna,**H.Anarghou**,H.Chahid,M,Mamouri,M.Najimi,F.Chigr.Prevalence of Physical Activity, Sedentary Behaviour and Unhealthy Dietary Habits among Moroccan Adolescents, For Participating in the National PhD Students Days 2020 (NPSD 2020) 3rd edition ,16-17 September 2020

Communications affichées :

- ✓ **H. Anarghou**, b. mallouki, H. Malqui, M. Najimi, F. Chigr « Effets de la toxicité chronique du plomb et de l'aluminium sur le comportement et la capacité mnésique chez le rat » Symposium International des Jeunes Chercheurs en Neurosciences, du 18 au 20 avril 2018, à la faculté Polydisciplinaire, Béni Mellal, Maroc
- ✓ **Hammou Anarghou**, Hasna Merzouki, Mohamed Merzouki, Hafida Hanine "Etude de l'effet des lixiviats de la décharge de Fkih Ben Saleh sur la survie de la moule (*Mytilus dallprovincialis*)" au Forum International sur les Changement Climatiques organisé dans le cadre ATLASCOP, les 18 et 19 octobre 2016.
- ✓ Ouardi FZ, Ouasmi N., Malqui H., **Anarghou H.**, B. Mallouki, Najimi M, F. Chigr. « L'effets de l'exposition pré-natal et post-natal du malathion sur les paramètres développementaux chez la souris » Symposium International des Jeunes Chercheurs en Neurosciences, du 18 au 20 avril 2018, à la faculté Polydisciplinaire, Béni Mellal, Maroc.
- ✓ Ouasmi N., **Anarghou H.**, Malqui H., B. Mallouki, Najimi M, F. Chigr. « L'effets de l'exposition au cadmium a faible dose pendant la gestation et lactation le neurodéveloppement chez le rat » Symposium International des Jeunes Chercheurs en Neurosciences, du 18 au 20 avril 2018, à la faculté Polydisciplinaire, Béni Mellal, Maroc.
- ✓ Chaoui N., Hnini R., Malqui H., **Anarghou H.**, Ait chaoui A, Najimi M, F. Chigr. « Effet de l'application d'un stress chronique chez la souris sur les

aspects comportementaux et cognitifs » Symposium International des Jeunes Chercheurs en Neurosciences, du 18 au 20 avril 2018, à la faculté Polydisciplinaire, Béni Mellal, Maroc

- ✓ F-Z. Ouardi, **H. Anarghou**, B-y.Malallouki, N.Ouasmi, A. Ait Chaoui, M. Chigr : The postnatal effects of Malathion on feeding behavior in mice : International Symposium On Stress, Addiction, And Obesity : Stress and Appetitive Behaviors : A Potential Link between Obesity and Addiction, communication affichée, 3-5 december 2015, Marrakach, Morocco.
- ✓ Boutahar K, Kaoutar K, Chetoui A, **Anarghou H**, Chigr F, Najimi M « Comportements alimentaires et mondialisation : état, effets et enjeux » Colloque international ,27et 28 octobre 2016 à la faculté de Médecine et de Pharmacie (Marrakech-Maroc).
- ✓ Abdelmounaim Boulhanna, H. Rahmi, **H. Anarghou**, F. Chigr, M. Najimi, M. Chigr « la perception de l'image corporelle et de l'état de santé : cas des élèves du secteur public et privé au niveau de la région de Beni Mellal Khénifra. At the :2nd Moroccan Congress of Neurophysiology § 1st African and MENA Seminar of Clinical Neurophysiology October ,26th-28th,2017, Rabat, Morocco.
- ✓ A Boulhanna; M Mamouri; S Ibour; **H Anarghou**; B MALLOUKI; F CHIGR; M NAJIMI the first International conference on Biotechnology: perspectives Beyond 2020 December 18 and 19,2017 “the influence of the residential environment on the health status and academic performance of public and private sector adolescents in the Beni Mellal Khénifra region.
- ✓ Boulhanna, Abdelmounaim; Hicham, Rahmi; Hicham, Chahid; Marouane, Mamori; **Hammou, Anarghou**; ben yamine, mallouki; mohamed, bel fellah; mariama, el ouahli; mohammed, merzouki; fatiha, Chigr; Mohamed Chigr, Mohamed najimI. Lifestyle habits and school performance: Study among college students of the Beni mellal-khénifra region in 1st conference on social impact of science SIS2016 a universita de barcelona du 25-29/07/2016.

Liste des figures

Figure 1: Chronologie d'apparition des différentes familles de pesticides.....	9
Figure 2: Les diverses voies possibles d'exposition de l'homme et des consommateurs terminaux aux micropolluants .	12
Figure 3: Biosynthèse des acides aminés aromatiques chez les végétaux supérieurs.....	15
Figure 4: Structures chimiques du glyphosate et de son métabolite AMPA.....	16
Figure 5: Effets toxiques suspectés chez l'humain .	17
Figure 6: Proposition du mécanisme de neurotoxicité du glyphosate dans l'hippocampe de rat	24
Figure 7:Schéma montrant le stress oxydant, qui est un état de déséquilibre entre le système de défense par les antioxydants et la surproduction des radicaux libres..	31
Figure 8 :Mécanismes de production des principales espèces réactives de l'oxygène (ERO) impliqués en biologie	35
Figure 9:Réaction de la peroxydation lipidique.	36
Figure 10: Les modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire.	37
Figure 11: les différents types de dommages de l'ADN.	38
Figure 12: les effets des ERO sur le matériel génétique	39
Figure 13: Durée de traitement avec les différentes manipulations réalisées au cours de cette étude.....	46
Figure 14: Images explicatives du test de récupération des souriceaux	48
Figure 15: Photos explicatives du test « surface righting reflex ».	50
Figure 16: dispositif pour le déroulement du test « Cliff Avoidance ».....	50
Figure 17: Dispositif explicatif du test « Négative geotaxis »	51
Figure 18: Dispositif du test Saut vers le bas avec avec le test de choix (Jumping down choice cage).....	51
Figure 19: Dispositif du test du développement de la nage « swimming developement ».	52
Figure 20 : Dispositif expérimental du test de labyrinthe surélevé.....	54
Figure 21:Dispositif expérimental du test champ ouvert (« Open Field »).....	54
Figure 22: Dispositif expérimental du test labyrinthe en Y avec la formule adaptée pour calculer le pourcentage d'alternance.	55
Figure 23: Dispositif expérimental du test « Reconnaissance des objets ».....	56
Figure 24: Dispositif explicatif du test Interaction Sociale	58

Figure 25: Evolution du poids (A), de la longueur de la queue (B) et de la longueur du corps (C) chez les souriceaux traités et leurs témoins aux jours postnataux PN5, PN12, PN15, PN17 et PN21	67
Figure 26: Test Surface réflexe de redressement..	68
Figure 27: Effet du traitement du Glyphosate sur les réponses du test d'évitement de la falaise au PN 6.	69
Figure 28: Résultats de l'effet du Glyphosate sur le comportement des souriceaux traités 25mg/l ;50mg/l par rapport aux témoins, « Test de réaction anti-gravitaire »..	70
Figure 29: Effet du traitement par le Glyphosate sur les réponses des souriceaux au test.....	72
Figure 29: Effet du traitement par le Glyphosate sur les réponses des souriceaux au test "Jumping down choice cage »,	72
Figure 30: les paramètres du test "le développement de la natation "	74
Figure 31: Effet du Glyphosate administré durant la gestation et après la mise bas sur l'allaitement des femelles traitées 25mg/l et 50 mg/l par rapport aux témoins (PN1-22)..	75
Figure 32: Effet du Glyphosate administré durant la période de gestation et après la mise bas sur les paramètres du test de récupération des souriceaux durant les premiers 12 jours postnataux.	77
Figure 33: Evolution du pourcentage d'alternance (A et B) et le Nombre des entrées dans les trois bras (C et D) obtenus par le test du labyrinthe en Y chez les souris mâles traités 0.5 mg/l (n=10), 14 mg/l (n=10), 25 mg/l (n=12) et 50 mg/l (n=12) du Glyphosate et les témoins (n=12)..	78
Figure 34 : les résultats de reconnaissance d'objet des souriceaux traités par le Glyphosate et leurs témoins.....	80
Figure 35: Résultats du test labyrinthe surélevé (EPM) :.....	81
Figure 36: Résultats de l'effet du Glyphosate sur les paramètres du test "Open Field "	82
Figure 37: Comportement social des souriceaux témoins et traités par le Glyphosate dans le test de l'interaction social, (A, B) et (C, D) la durée dans les deux boxes du dispositif (session 1 et 2), (E, F) et (G, H) la durée des souriceaux en contact des deux grilles des souris étrangères (session 1 et 2)..	84
Figure 38: Evolution du pourcentage d'alternance (A et B) et le nombre des entrées dans les trois bras (C et D) obtenus par le test du labyrinthe en Y chez les souris mâles traités avec	

0.5mg/l (n=10),14mg/l (n=10),25 mg/l (n=12) et 50 mg/l (n=12) de Glyphosate et chez les témoins (n=12).....	86
Figure 39: les résultats du test de reconnaissance d'objet des souris traitées par le Glyphosate et leurs témoins.....	87
Figure 40: Résultats de l'effet du Glyphosate sur les paramètres du test "Open Field "	89
Figure 41: Résultats du test labyrinthe surélevé (EPM).....	90
Figure 42: le comportement social des souriceaux témoins et traités par le Glyphosate dans le test de l'interaction sociale	92
Figure 43: Evolution de l'activité acétylcholinestérasique chez les souriceaux traités et témoins au jour postnatale PN5.....	93
Figure 44 : l'évolution de l'activité acétylcholinestérasique dans les différentes structures cérébrales (cervelet, tronc cérébral, hémisphère droit et gauche) chez les souriceaux traités par le glyphosate et leurs témoins aux jours PN10, PN15 et PN21.....	94
Figure 45: Variation du taux de MDA au niveau du cervelet/tronc cérébral et les hémisphères cérébraux des souriceaux traités par glyphosate et leurs témoins.	95
Figure 46: Variation du taux en malondialdéhyde (nmol/mg protéine) dans le cervelet, le tronc cérébral et hémisphère droit et gauche chez les souriceaux témoins et traités	96
Figure 47 : Variation du taux en malondialdéhyde (nmol/mg protéine) dans le foie et les reins chez les souriceaux témoins et traités	97
Figure 48 : Effet du glyphosate sur l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (nmol GSH/protéine) dans le cervelet/tronc cérébral et les hémisphères cérébraux chez les souriceaux témoins et traités au jour PN5.	97
Figure 49 : Effet du glyphosate sur l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (nmol GSH/protéine). dans le cervelet/tronc cérébral et les hémisphères cérébraux chez les souriceaux témoins et traités au jour PN5.....	99
Figure 50 : Effet du glyphosate sur l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (nmol GSH/protéine) dans le foie et les reins chez les souriceaux témoins et traités.....	100
Figure 51 : Effet du glyphosate sur l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (nmol GSH/protéine) dans le foie et les reins chez les souriceaux témoins et traités.....	100
Figure 52 : Effet du glyphosate sur de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) dans le cervelet, le tronc cérébral et l'hémisphère droit et gauche chez les souriceaux témoins et traités	101

Figure 53 : Effet du glyphosate sur l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) dans le foie et les reins chez les souris témoins et traités.....	102
Figure 54 : Effet du glyphosate sur l'activité enzymatique de la catalase (CAT) dans le cervelet/tronc cérébral et les hémisphères cérébraux chez les souris témoins et traités	103
Figure 55 : Variation de l'activité enzymatique de la catalase dans le cervelet, le tronc cérébral et les hémisphères droit et gauche chez les souris témoins et traités.....	104
Figure 56 : Effet du glyphosate sur l'activité de la catalase (CAT) dans le foie et les reins chez les souris témoins et traités	105
Figure 57 : Effet du glyphosate sur l'activité de la glutathion S-transférase (GST) dans le cervelet/tronc cérébral et les hémisphères cérébraux chez les souris témoins et traités	106
Figure 58 : Effet du glyphosate sur l'activité de la GPx dans le cervelet/tronc cérébral et les hémisphères cérébraux chez les souris témoins et traités.	107
Figure 59 : Effet du glyphosate sur l'activité de la GPx dans le foie et les reins chez les souris témoins et traités	107
Figure 60 : l'évolution de l'activité acétylcholinestérase dans les différentes structures cérébrales (Bulbe olfactif, Hypothalamus, Mésencéphale, Pont, Cervelet, Bulbe rachidien et Hippocampe) chez les souris traitées par le GLP et leurs témoins.....	109
Figure 61 : Variation du taux de MDA au niveau des structures cérébrales (Bulbe olfactif, Hypothalamus, Mésencéphale, Pont, Cervelet, Bulbe rachidien et Hippocampe) des souris témoins et traitées au GLP..	110
Figure 62 : Variation du taux de MDA hépatique, rénal et des testicules chez les souris traitées au GLP et leurs témoins.....	111
Figure 63 : Effet du glyphosate sur l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (nmol GSH/protéine) dans le bulbe olfactif, l'hypothalamus, le mésencéphale, le pont, le cervelet, le bulbe rachidien et l'hippocampe chez les souris adultes témoins et traitées..	111
Figure 64 : Effet du glyphosate sur l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (nmol GSH/protéine) dans le foie, les reins et les testicules chez les souris adultes témoins et traitées.....	112

Figure 65 : Effet du glyphosate sur l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) dans le bulbe olfactif, l'hypothalamus, le mésencéphale, le pont, le cervelet, le bulbe rachidien et l'hippocampe chez les souris adultes témoins et traitées.	113
Figure 66 : Effet du glyphosate sur l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) dans le foie, les reins et les testicules chez les souris adultes témoins et traitées.	113
Figure 67 : Effet de glyphosate sur l'activité de la catalase au niveau des structures cérébrales (Bulbe olfactif, Hypothalamus, Mésencéphale, Pont, Cervelet, Bulbe rachidien et Hippocampe) chez les souris traitées et leurs témoins.	114
Figure 68 : Effet de glyphosate sur l'activité de la catalase au niveau des organes (le foie, les reins et les testicules) chez les souris traitées et leurs témoins.	115
Figure 69 : Variation de l'activité de la glutathion s-transférase au niveau des structures cérébrales (Bulbe olfactif, Hypothalamus, Mésencéphale, Pont, Cervelet, Bulbe rachidien et Hippocampe) des souris traitées et témoins.	115
Figure 70 : Variation de l'activité de la glutathion s-transférase au niveau des organes (le foie, les reins et les testicules) des souris traitées et témoins.	116

Liste des tableaux

Tableau I: Principales espèces réactives oxydantes (ERO) organiques	32
Tableau II : Calendrier des tests neurodéveloppements chez les souriceaux	49
Tableau III : Effet du glyphosate sur la maturation physique des souriceaux.	65
Tableau IV : Effet du glyphosate sur la maturation physique des souriceaux.....	66
Tableau V: Effet de l'administration de Glyphosate sur les activités maternelles..	75
Tableau VI: Effet de l'administration de Glyphosate sur les activités non maternelles.....	76

TABLE DES MATIERES

I. INTRODUCTION GENERALE	1
II. Généralité sur les Pesticides	5
II.1.1 Définition	5
II.2 Familles, modes d'action et usages	5
II.3 Les voies d'exposition aux pesticides :	10
III. Généralité sur le glyphosate	12
III.1.1 Introduction.....	12
III.2 Histoire du glyphosate	13
III.3 Mode d'action dans la plante	14
III.4 Contamination du sol et de l'eau par le glyphosate	15
III.5 Toxicité hépatique et rénale	18
III.6 Effet sur la reproduction	20
III.7 Effets neurotoxiques du glyphosate.....	21
III.8 L'effet du glyphosate sur le microbiote.....	24
III.9 Sensibilité particulière de l'organisme en développement	25
III.10 Transfert placentaire et via le lait maternel de contaminants.	27
IV. Stress Oxydant.....	30
IV.1.1 Définition.....	30
IV.2 Radicaux libres.....	31
IV.2.1 Généralités sur les radicaux libres	31
IV.2.2 Les radicaux libres biologiques.....	31
IV.3 Mécanismes de production des principales ERO	33
IV.3.1 ERO radicalaires	33
IV.3.2 ERO non radicalaires	33
IV.4 Conséquence du stress oxydant.....	35
IV.4.1 Peroxydation lipidique	35
IV.4.2 Oxydation des protéines.....	36
IV.4.3 Oxydation de l'ADN.....	37

IV.5 Le stress oxydant et les pathologies	38
IV.6 Les antioxydants.....	39
IV.6.1 Définition des antioxydants	39
IV.7 Le système antioxydant enzymatique.....	39
IV.7.1 Les superoxydes dismutases (SOD).....	39
IV.7.2 La catalase (CAT).....	40
IV.7.3 Les glutathions peroxydases (GPX) et réductases (GR)	40
IV.8 Antioxydants non enzymatiques	41
IV.8.1 Le glutathion réduit (GSH)	41
IV.8.2 L'acide urique.....	42
IV.8.3 La vitamine C.....	42
IV.8.4 Vitamine E	42
IV.8.5 Caroténoïdes	42
V. Animaux, traitement et modalités d'exposition.....	45
VI. Etude du comportement	47
VI.1 Evaluation du comportement maternel	47
VI.2 Test de récupération des souriceaux (Retrieval Test).....	48
VI.3 Les tests neurodéveloppements réalisés sur les souriceaux.....	49
VI.3.1 Test de retournement (<i>righting reflex</i>).....	49
VI.3.2 Cliff Avoidance.....	50
VI.3.3 Test de réaction anti-gravitaire (negative geotaxis).....	50
VI.3.4 Saut vers le bas avec le test de choix (« Jumping down choice cage »	51
VI.3.5 Le développement de la natation (« Swiming developpement ».....	52
VII. Evaluation du comportement individuel de 23 jours et à l'âge adulte.....	53
VII.1.1 Le labyrinthe en croix surélevée ou Elevated Plus Maze (EPM).....	53
VII.1.2 L'Open Field (Champs ouvert).....	54
VII.1.3 Le labyrinthe en Y (Y-Maze).....	55
VII.1.4 Reconnaissance d'objet.....	55
VII.1.5 Test de l'interaction sociale :	56

VIII.	Dosage de l'acétylcholinestérase.....	58
VIII.1.1	DOSAGE DES MARQUEURS DU STRESS OXYDANT	58
VIII.1.2	Préparation de l'homogénat	59
VIII.1.3	Dosage de malondialdéhyde (MDA)	59
VIII.1.4	Dosage de l'activité de la Superoxyde Dismutase (SOD).....	60
VIII.1.5	Dosage de la glutathion peroxydase (GSH-Px)	60
VIII.1.6	Dosage de la glutathion-S-transférase (GST s).....	61
VIII.1.7	Dosage de l'activité de la catalase (CAT).....	62
	Aspect neurodéveloppement	65
IX.	Résultats de l'étude des paramètres physiques chez les souriceaux.....	65
IX.1.1	Résultats des paramètres physiques étudiés	65
IX.1.2	Le poids, la longueur du corps et de la queue des souriceaux.....	66
X.	ANALYSE DU COMPORTEMENT	68
X.1	Les tests neurodéveloppementaux	68
X.1.1	Surface righting reflex (réflexe de redressement sur une Surface)	68
X.1.2	Évitement de la falaise (Cliff avoidance).....	69
X.1.1	Test de réaction anti-gravitaire (<i>negative geotaxis</i>)	69
X.1.2	Saut vers le bas avec le test de choix (Jumping down choice cage test)	70
X.1.3	Le développement de la natation "Swiming developement"	73
X.2	Comportement Maternel.....	74
X.2.1	Résultats du test de récupération des souriceaux (Retrieval Test)	76
XI.	Résultats de l'étude du comportement des souriceaux au 23^{ème} jour postnatal ...	77
XI.1.1	Test de labyrinthe en y (y-Maze)	77
XI.1.2	Test reconnaissance des objets.....	78
XI.1.3	Labyrinthe en croix surélevé (EPM)	80
XI.1.4	Test d'Open Field	81
XI.1.5	L'interaction sociale.....	82
XII.	Résultats des tests comportementaux à l'âge adulte	85
XII.1.1	Test labyrinthe en Y (Y-Maze).....	85
XII.1.2	Test de reconnaissance des objets	86
XII.1.3	Test d'Open Field	87

XII.1.4	Labyrinthe en croix surélevé (EPM)	89
XII.1.5	L'interaction sociale.....	90
XIII.	Dosages	93
XIII.1	Résultats du dosage de l'acétylcholinestérase chez les souriceaux	93
XIV.	Résultats du dosage des marqueurs du stress oxydant	95
XIV.1	Dosage du stress oxydant au niveau cérébral, hépatique et rénal	95
XIV.1.1	Dosage de Malondialdéhyde (MDA).....	95
XIV.1.2	Dosage de la glutathion peroxydase (GPx).....	97
XIV.1.3	Dosage de la superoxyde dismutase (SOD).....	100
XIV.1.4	Dosage de la catalase (CAT).....	103
XIV.1.5	Dosage de l'activité de la glutathion S-transférase (GST).....	105
XIV.2	Résultats du dosage de l'acétylcholinestérase chez les souris adultes	109
XV.	Résultats du dosage des marqueurs du stress oxydant chez les souris adultes ...	109
XV.1.1	Dosage de Malondialdéhyde (MDA).....	109
XV.1.2	Dosage de la glutathion peroxydase (GPx).....	111
XV.1.3	Dosage de la superoxyde dismutase (SOD).....	112
XV.1.4	Dosage de la catalase (CAT).....	113
XV.1.5	Dosage de l'activité de la glutathion S-transférase (GST).....	115
XVI.	Discussion	117
	Conclusion générale	
	Perspectives	

I. INTRODUCTION GENERALE

L'homme un des êtres vivants composant la multitude des organismes de la biosphère demeure exposé en permanence à de nombreuses substances chimiques de son environnement. Il s'agit d'éléments naturels mais également d'autres produits issus des activités humaines tels que les rejets industriels ou ceux liés aux activités agricoles tels que les fertilisants ou encore les pesticides. En effet, les pesticides sont largement utilisés dans le monde entier pour protéger les cultures contre les maladies cryptogamiques (fongicides), les insectes nuisibles (insecticides) ou les « mauvaises herbes » (herbicides), dans le but d'augmenter la productivité agricole pour répondre à l'accroissement des besoins alimentaires (Rani et al., 2017).

La neurotoxicité développementale est aujourd'hui définie de manière précise, comme toute action des substances chimiques, physiques, ou biologiques sur le système nerveux en développement, avant ou après la naissance, et qui interfère avec les structures et les fonctions normales. L'exposition à ces molécules chimiques pendant le développement peut induire des effets délétères sur un plan structural, fonctionnel, comportemental et neurochimique (Dorman et al, 2001). Les conséquences concrètes de la prise en compte de la sensibilité particulière du système nerveux dans les phases précoces de son développement ne sont plus à prouver, afin de surveiller l'exposition des enfants aux pesticides contenus dans l'alimentation. Le système nerveux central en développement est plus sensible aux substances neurotoxiques au cours de sa maturité, Car la barrière hémato-méningée n'achève sa formation que tardivement : elle ne se termine chez l'Homme que 6 mois après la naissance, laissant la porte ouverte aux molécules toxiques (Rodier, 1995). De plus, le rôle de la barrière placentaire est également insuffisant pour empêcher de nombreuses molécules chimiques de pénétrer dans le corps et le cerveau (Andersen et al., 2000).

Néanmoins, avec l'utilisation massive des pesticides (particulièrement les herbicides) sont apparus des signes évidents de toxicité et d'effets néfastes pour l'environnement et pour l'Homme (Van Bruggen et al., 2018). En effet, Le développement du cerveau peut être également altéré par les pesticides parmi lesquels sont bien représentés les insecticides, et en particulier les insecticides neurotoxiques de la famille des organophosphorés (OP) (Grandjean & Landrigan, 2006).

Il a été également rapporté que des effets sur la reproduction (Owagboriaye et al., 2017; Wasiu & Abdulfatai, 2019), la tératogénicité (Fagan et al., 2012; Osano et al., 2002) , la toxicité rénale et hépatique (Clausing, 2015) , ainsi que des effets cancérogènes (Thongprakaisang et al., 2013)

pourraient être étroitement liés à leurs utilisations. Certains des effets nocifs produits par des herbicides sont neurotoxiques et sont liés à une perturbation du développement du système nerveux (Szepanowski et al., 2019). Ainsi, plusieurs études expérimentales *in vitro et in vivo* ont permis de montrer que certains herbicides peuvent induire des troubles neurodégénératifs, tels que les maladies de Parkinson et d'Alzheimer (Richardson et al., 2014)..

Le glyphosate (N-phosphonométhyl-glycine) est un composé organophosphoré, largement utilisé comme herbicide non sélectif à large spectre dans des activités agricoles et non agricoles. Quatre-vingt pour cent des cultures génétiquement modifiées étaient des plantes résistantes aux glyphosate, telles que le maïs, le soja, le coton et le canola, etc. (Williams et al., 2000).

Les agriculteurs américains ont largement utilisé des cultures anti-glyphosate depuis 1996 (Frisvold et al., 2009) .Cela signifie qu'il y aura une quantité importante de glyphosate dans l'environnement du sol et de l'eau. Une étude a montré que le glyphosate (GLP) et ses métabolites tels que l'acide aminométhylphosphonique (AMPA) ont été retrouvés dans le sol et dans les rivières (M. Martínez et al., 2020; Poiger et al., 2017).

En revanche, l'exposition au glyphosate (GLP) entraîne un stress oxydatif dans plusieurs tissus, notamment le foie et les reins (Beuret et al., 2005; El-Shenawy, 2009; Modesto & Martinez, 2010; K. Larsen et al., 2012; Cattani et al., 2014). Cependant, on sait peu de choses sur l'impact des doses sublétales du GLP sur la santé humaine et l'environnement, et bien que le GLP soit considéré comme sans danger pour les êtres vivants, sa sécurité a été mise en doute dans le monde entier. Certains rapports cliniques sur l'intoxication humaine par des formulations commerciales de GLP ont montré des effets négatifs sur le système nerveux (Barbosa et al., 2001; G. Wang et al., 2011).

L'étude de la toxicité développementale "des herbicides", comme celle du glyphosate serait donc d'un grand intérêt, tant pour la santé publique que pour aider à évaluer les effets de ces substances sur l'environnement. Il est intéressant de noter que le glyphosate et l'AMPA induisaient des effets cytotoxiques sur le développement neuronal, le stress oxydatif et la mort cellulaire via les voies apoptotiques, autophagiques et nécrotiques (M. Martínez et al., 2020). Il a été rapporté que le glyphosate peut affecter le développement du système nerveux chez le nématode *Caenorhabditis elegans* (McVey et al., 2016) . L'exposition au glyphosate provoquerait également des changements dans la substance noire et l'hippocampe chez le rat mâle, suggérant ainsi que cet herbicide pourrait perturber les processus neurodéveloppementaux (Cattani et al., 2021).

Dans ce contexte, l'objectif de cette thèse est d'évaluer les effets du GLP suite à une exposition chronique avec de faibles doses. Les périodes d'intoxications choisies correspondent aux périodes de gestation et lactation jusqu'au stade adulte. Ce sont des périodes très critique au cours desquelles il y a le développement et la maturation des structures cérébrales.

Dans la partie théorique, nous allons essayer de présenter des données sur les pesticides ainsi que, l'effet du glyphosate sur le système nerveux, la reproduction, le foie et les reins.

Dans la partie expérimentale, on présentera le matériel utilisé, les méthodes suivies et les résultats obtenus de notre expérimentation. Enfin, cette partie sera terminée par une conclusion générale qui synthétisera les principaux résultats de ce travail suivi de références bibliographiques.

CHAPITRE I

Synthèse bibliographique

II. Généralité sur les Pesticides

II.1.1 Définition

Les pesticides peuvent se définir comme des substances chimiques ou mélange de substances, permettent de combattre ou détruire les espèces indésirables de plantes et des animaux (les insectes, nématodes, arachnides, ...etc.) qui sont nuisibles aux produits agricoles, aux denrées alimentaires, au bois et aux produits ligneux. En outre, les pesticides sont utilisés dans plusieurs domaines d'activité pour lutter contre les bactéries, les virus (antimicrobien) et les parasites. En effet, Les pesticides sont utilisés autant en agriculture que dans d'autres secteurs tels que la gestion des espaces urbains, les milieux hospitaliers, les jardins domestiques. Ils agissent sur les micro-organismes et les ravageurs par le contact direct, l'ingestion ou par d'autres voies d'exposition (VoPham et al., 2017).

II.2 Familles, modes d'action et usages

Les pesticides présentent une grande diversité de caractéristiques chimiques, structurales et fonctionnelles. Les familles des pesticides sont en général distinguées en fonction du type d'organisme ciblé, On parle ainsi d'insecticides, de fongicides et herbicides, certaines substances chimiques sont spécifiquement, par exemple, nématicides ou algicides, acaricides, mais font l'objet d'un usage beaucoup plus limité que les trois groupes précédemment cités (Goel & Aggarwal, 2007). Une autre nomenclature est basée sur la structure chimique des molécules et est inspirée de l'Union Internationale de Chimie pure et Appliquée (IUPAC). Parmi les familles les plus connues on peut citer (**Figure 1**) :

Les organochlorés qui sont des composés organiques incluant un atome de chlore (aldrine, chlordane, endosulfane). C'est la famille la plus ancienne qui a été découverte en 1950 avec des propriétés insecticides du lindane (les organochlorés les plus connus) et du dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) (Debouge et al., 1987).

Les organochlorés sont des insecticides de contact, provoquent une détérioration du fonctionnement des canaux sodiques, nécessaires à la transmission de l'influx nerveux (Durand et al., 2012). En plus, Le DDT est le premier insecticide organochloré moderne ayant révolutionné la prise en charge de certaines grandes épidémies comme le typhus et le paludisme (Girard et al., 2020). Certaines études ont montré une association positive entre la survenue d'un cancer du sein et les pesticides organochlorés ainsi que tous les organophosphorés, en particulier avant la ménopause (Engel et al., 2017; Lerro et al., 2015). Ces pesticides sont des

polluants organiques persistants et qui également sont souvent des perturbateurs endocriniens (Fenichel et al., 2016). Ainsi, les organochlorés peuvent causer des dommages directs aux cellules de l'épithélium germinale telles que les cellules de Sertoli, ce qui entraîne un faible nombre de spermatozoïdes (Henkel, 2018). L'effet peut être également sur les cellules de Leydig où la stéroïdogénèse est perturbée (Henkel, 2018). En fait, certains organochlorés persistants sont suspectés de participer à l'augmentation de l'obésité, du diabète de type 2 et du syndrome métabolique (Ambolet-Camoit et al., 2012).

Les organochlorés sont interdits en Europe et dans nombreux autres pays en raison de leur caractère lipophile. En outre, ces pesticides présentent une grande stabilité dans l'environnement et provoquent une contamination des chaînes alimentaires.

Les urées substituées (NH₂-CO-NH₂) sont des herbicides connus depuis 1951. Ils sont utilisés aussi bien en agriculture que dans les secteurs non agricoles. Leur mode d'action est de type désherbant comme celui des triazines (herbicides), le chlortoluron et Le diuron qui font partie de cette famille (Yousef & Freed, 1987). Une étude a confirmé que les cultures de microalgues sont clairement affectées par une exposition aiguë et chronique du chlortoluron (Valiente Moro et al., 2012). Par exemple, cet herbicide (chlortoluron) a montré un effet inhibiteur significatif sur la croissance d'*A. Coffeaeformis*, tandis que la mésotrione a induit une augmentation de la densité cellulaire chez *A. fusiformis* (Valiente Moro et al., 2012).

Carbamates : Depuis 1956, plus de 50 matières actives **des carbamates** ont été synthétisées. Ces carbamates sont dérivés de l'acide méthyl-ou diméthyl-carbamique et peuvent être dotés de propriétés insecticides, herbicides ou fongicides. Les études épidémiologiques ont montré que certains carbamates pouvaient exercer des effets toxiques sur le système nerveux avec le développement de pathologies neurodégénératives ou l'apparition de troubles cognitifs et anxio-dépressifs (Juricek & Coumoul, 2014), plus évident est que ces pesticides permettent l'inhibition des cholinestérases (Darvesh et al., 2008). De plus, une étude sur les enfants d'une région agricole de Chine exposés aux carbamates a montré un impact négatif sur le développement neurologique (Zhang et al., 2020). Une autre étude récente a démontré un dysfonctionnement du complexe I mitochondrial induit par les carbamates (Janowska et al., 2020).

Les triazines sont des composés qui incluent les trois atomes d'azote dans leur cycle aromatique et ils ont été découverts en 1960. Ce sont des herbicides qui inhibent la photosynthèse, par blocage du photosystème II (Berard & Pelte, 1996). En fait, l'atrazine (le

plus connus) et la simazine ou la terbuthylazine ont été massivement utilisées pour le traitement des cultures de maïs sur de très grandes surface jusqu'en 2003. Les triazines entraînent dans ce sens une contamination généralisée des cours d'eau et des sols (Christian Le Coz & Thevenot, 2015). De plus, une lésion au développement des neurones dopaminergiques via la boucle autorégulatrice Lmx1a / Wnt1 induite par la simazine (Li et al., 2020). En outre ,la simazine retarde le début de la puberté chez le rat femelle avec une diminution significative de la prolactine sérique (PRL) (Zorrilla et al., 2010). L'exposition de l'atrazine provoque le dysfonctionnement immunitaire, la neurotoxicité, une perturbation endocrinienne et des effets néfaste sur la reproduction chez les rongeurs (Fan, 2014). De même, l'exposition maternelle à certains triazine perturbe le développement normal de la progéniture femelle en provoquant apoptose et prolifération cellulaires (Park et al., 2014). L'utilisation des composés de triazines sont interdits depuis 2003.

Le développement **des organophosphorés** (OP) a été initié depuis en 1970, favorisé par l'interdiction de l'utilisation des composés organochlorés. Les organophosphorés sont des insecticides qui peuvent être pénétrer dans les tissus végétaux et permettent de protéger les plantes contre les insectes. Les OP ont en commun leur mode d'action sur le système nerveux des ravageurs et sont responsables d'une mortalité élevée par intoxication aiguë (Thabet et al., 2009). En fait, ces insecticides agissent au niveau des synapses cholinergiques en inhibant le fonctionnement de l'acétylcholine estérase (l'enzyme de dégradation de l'acétylcholine). L'acétylcholine s'accumule donc dans l'espace inter-synaptique et provoque une hyperexcitation menant à la mort (Shieh et al., 2019). Certains auteurs suggèrent que l'exposition à ces OP durant la grossesse ou en période périnatale pourraient contribuer au développement de l'asthme de l'enfant (Xu et al., 2012). La persistance couplée au caractère lipophile des OP a contribué à leur bioaccumulation dans la faune à travers la chaîne alimentaire (Wiberg et al., 2000). La détection de ces OP au niveau de plusieurs écosystèmes a été démontré par certaines études récentes (Connor et al., 2007; Xue et al., 2005) .

Les OP aliphatiques (par exemple : malathion...), les OP à cycle phenyl (par exemple : phosalone, parathion...) et les OP à hétérocycle (dont : chlorpyrifos, diazinon...) appartiennent à cette famille.

La famille **des chloroacétamides** (ou chloroacétanilides) a été développé en 1975, avec la commercialisation de l'alachlore, puis du métolachlore. Ces chloroacétamides sont des herbicides qui inhibent le développement et la croissance d'une nouvelle plante (germination), en bloquant la synthèse des acides gras à longue chaine (pelmont) (Matthes et al., 1998). Cette

famille est le plus fréquemment retrouvée dans les zones de culture de maïs et dans les eaux. Une autre étude a démontré que les herbicides induisent un effet de stress oxydatif plus fort chez les vers de terre ; une augmentation des activités de la superoxyde dismutase (SOD), de l'enzyme antioxydante catalase (CAT) et la teneur en cytochrome P450 a été signalée chez les vers de terre (Liu et al., 2020). En fait, certains chlorocétamides présentent un risque plus élevé dans l'environnement du sol (Liu et al., 2020).

Les sulfonilurées est une famille qui comporte une vingtaine de molécules, le chlorsulfuron est le premier composé qui a été commercialisé en 1981. Les sulfonilurées sont des herbicides de contact, ils inhibent l'acétolactate synthétase, responsable de la synthèse d'acides aminés essentiels, bloquant ainsi rapidement la croissance du végétal (Khelifa & Abrous, 2003). Une étude récente a conclu que l'utilisation de sulfamide hypoglycémiant a été associée à une augmentation de 14% du risque de développer une fracture dans le diabète de type 2 (Zhang et al., 2020). Le risque de fracture causée par la sulfonilurée était similaire à celui de la thiazolidinedione, supérieur à la metformine et inférieur à l'insuline (Zhang et al., 2020). L'absorption et la toxicité de quatre herbicides à base de sulfonilurée (metsulfuron-méthyl, chlorsulfuron, triasulfuron et tribénuron-méthyl) pour la microalgue d'eau douce *Chlorella fusca* ont été étudiées sous différents régimes de pH. Les paramètres de toxicité étaient l'inhibition de la croissance du volume cellulaire et de la reproduction cellulaire, cultivées dans des conditions photoautotrophes (Fahl et al., 1995).

Depuis 1994, **Les néonicotinoïdes** ont été commercialisés. Ces néonicotinoïdes sont considérés comme des insecticides neurotoxiques. Ils se lient aux récepteurs nicotiques de certains neurones du système nerveux central de l'insecte, induisant à une paralysie totale puis à la mort (Buszewski et al., 2019). Cette famille offre une protection du stade de semence au stade adulte de la plante. En fait, L'imidaclopride est une substance active qui appartient à cette famille et le plus connu pour traiter les céréales (Royer et al., 2005). Une étude réalisée sur les effets interactifs des néonicotinoïdes et du rayonnement ultraviolet (UVR) naturel sur les larves de perche jaune (*Perca flavescens*) ont montré une interaction entre les UVR et le thiaméthoxame en termes de mortalité larvaire. Au niveau sublétal, l'imidaclopride était associée à une augmentation de la teneur en protéines, et en présence d'UVR, avec une activité acétylcholinestérase accrue, indiquant ainsi une perturbation cholinergique semblable à celle trouvée chez les insectes. Enfin, les chercheurs ont également trouvé une peroxydation lipidique réduite inattendue associée à l'imidaclopride (Paquet-Walsh et al., 2019) .

Les strobilurines sont des fongicides à large spectre, la strobilurine de synthèse (l'azoxystrobine) a été commercialisée pour la première fois en 2000, une partie de cette famille est Le kresoxim-méthyl. Elles contribuent à l'inhibition de la respiration, et permettent à la plante une protection systématique et préventive contre les champignons (Ortuño et al., 2008). Par conséquent, l'exposition aux azoxystrobine, perméthrine et tributyltinioxyde non aromatique ont provoqué des altérations cellulaires (Rudzok et al., 2009). Une étude sur le développement embryonnaire a révélé que le krésoxim-méthyl et la pyraclostrobine provoquaient une toxicité pour le développement (inhibition de l'éclosion). En effet, le poisson zèbre larvaire exposé aux krésoxim-méthyl et la pyraclostrobine avec des concentrations élevées ont augmenté de manière significative les activités catalase (CAT), peroxydase (POD), carboxylestérase (CarE) et la teneur en malondialdéhyde (MDA) par rapport à celles du groupe témoin (Mao et al., 2020). En outre, les effets du stress oxydatif ont été rapportés dans le foie de poisson zèbre adultes après une exposition à long terme aux krésoxim-méthyl et à la pyraclostrobine (Mao et al., 2020).

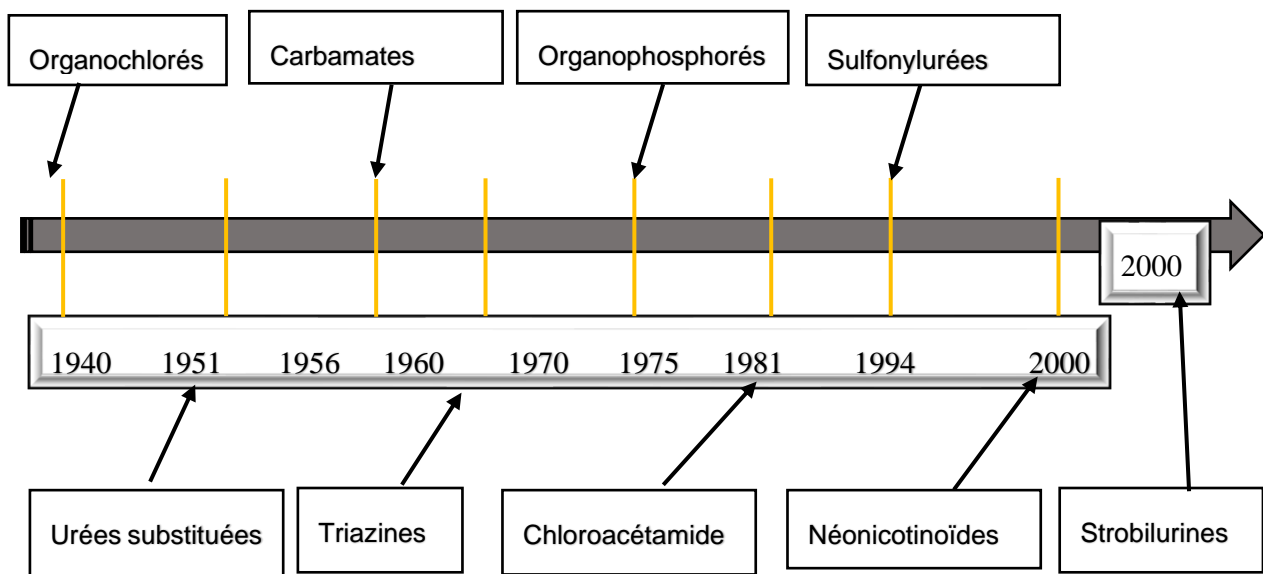


Figure 1:Chronologie d'apparition des différentes familles de pesticides

II.3 Les voies d'exposition aux pesticides :

La pénétration des pesticides dans l'organisme peut se faire par des voies suivantes : la voie cutanée, la voie respiratoire (inhalation), la voie digestive et la voie oculaire. Plusieurs facteurs sont responsables du risque d'exposition aux pesticides ; les personnes concernées ici sont les personnes manipulant directement les produits (les agriculteurs, usage domestique), au moment de la préparation, de l'application, de nettoyage des appareils et du vidage des cuves, ainsi que, les travailleurs qui entrent en contact avec des surfaces préalablement traitées (végétation ou autres) avec des pesticides (Aardema et al., 2008).

La voie cutanée est le principal mode d'exposition aux pesticides chez l'homme (Kim et al., 2017). La majorité de ces pesticides peuvent traverser les vêtements, et facilement absorbés via le revêtement cutané, à travers certaines régions corporelles comme le cuir chevelu, le front, les yeux (muqueuse) et les organes génitaux (contact des mains avec la région génitale). Une intoxication par les produits liposolubles (plus pénétrants) peut engendrer plusieurs effets dermatologiques et oculaires possibles. L'utilisation des pesticides dans les champs ou à domicile font courir le risque de l'entreposage. En effet, ils sont souvent entreposés sans précaution particulière dans les habitations a qui expose en plus les membres de la famille. L'importance de la pénétration cutanée varie selon la matière active et la formulation du produit chimique. Des facteurs externes peuvent influencer et majorer les risques d'une telle exposition. Comme l'absence de protection individuelle, le port prolongé de vêtements de travail contaminés, certaines conditions environnementales comme le vent ou la température ambiante, l'humidité et le délai entre deux périodes d'exposition peuvent augmenter le risque d'intoxication par voie cutanée.

Le mode d'intoxication le plus rapide et le plus direct est la voie respiratoire (Yélamos et al., 1992). En réalité, l'inhalation constitue souvent la principale voie d'entrée dans l'organisme pour les pesticides très volatiles, et qui s'évapore ou se décompose en produits gazeux au contact de l'air ou de l'eau (fumigant). En effet, les pesticides normalement appliqués sous forme de fines particules (aérosol), de brouillard ou de gaz peuvent ainsi être facilement inhalés. Le risque d'une infection pulmonaire est d'autant plus élevé quand les travaux sont effectués dans un espace clos confiné ou bien si la ventilation est inadéquate, comme un tunnel de culture ou une serre. On observe souvent ce type d'intoxication lorsqu'une personne ne porte pas du matériel de protection respiratoire adéquat. L'absorption de pesticides par la voie gastro-intestinal (voie orale) est plus rare chez les travailleurs. A l'exception d'une intoxication

accidentelle des pesticides déposés dans un contenant inapproprié ou de suicide (cas d'intoxication volontaire). En outre, en cas de fumer, manger ou boire lors de l'exécution de travaux avec des pesticides (contact de la bouche avec des mains contaminées) peuvent provoquer un risque sur la santé (Derkaoui et al., 2011). La voie alimentaire constitue la principale voie d'exposition en population générale (Anses, 2011). Elle est essentiellement due à l'ingestion d'aliments contenant des résidus de pesticides (Gasull et al., 2011). Les enfants sont exposés in utero, par passage transplacentaire des substances auxquelles la mère est exposée. Les nourrissons sont également exposés aux pesticides par le lait maternel, notamment aux molécules persistantes et bioaccumulables comme les organochlorés (Gascon et al., 2013; Tagiyeva et al., 2010).

III. Généralité sur le glyphosate

III.1.1 Introduction

À l'heure actuelle, avec l'avancement et le développement des activités humaines, diverses molécules chimiques sont détectées dans l'environnement dont plusieurs ont été démontrées comme étant dangereuses et ont des effets toxiques sur l'homme, les organismes aquatiques ainsi que terrestres. Certains pesticides sont parmi les causes principales de la contamination du sol, de l'air, de l'eau et des organismes vivants. Ainsi, leur utilisation pose un grand problème pour la santé publique, et non seulement pour les applicateurs qui sont les plus exposés, mais pour la population en général (Gasull et al., 2011; Kim et al., 2017). Par ailleurs, les pesticides diffusent dans l'environnement où ils peuvent s'y transformer en métabolites plus toxiques que le produit du départ (cas du **malathion** qui se transforme en malaaxon et du **Glyphosate (GLP)** en acide aminométhylphosphonique (AMPA)). Par l'intermédiaire de réseaux trophiques (ensemble de chaînes alimentaires), les résidus des pesticides ou leurs métabolites peuvent s'accumuler dans les tissus des organismes et atteindre l'homme ou les consommateurs terminaux (**figure 2**).

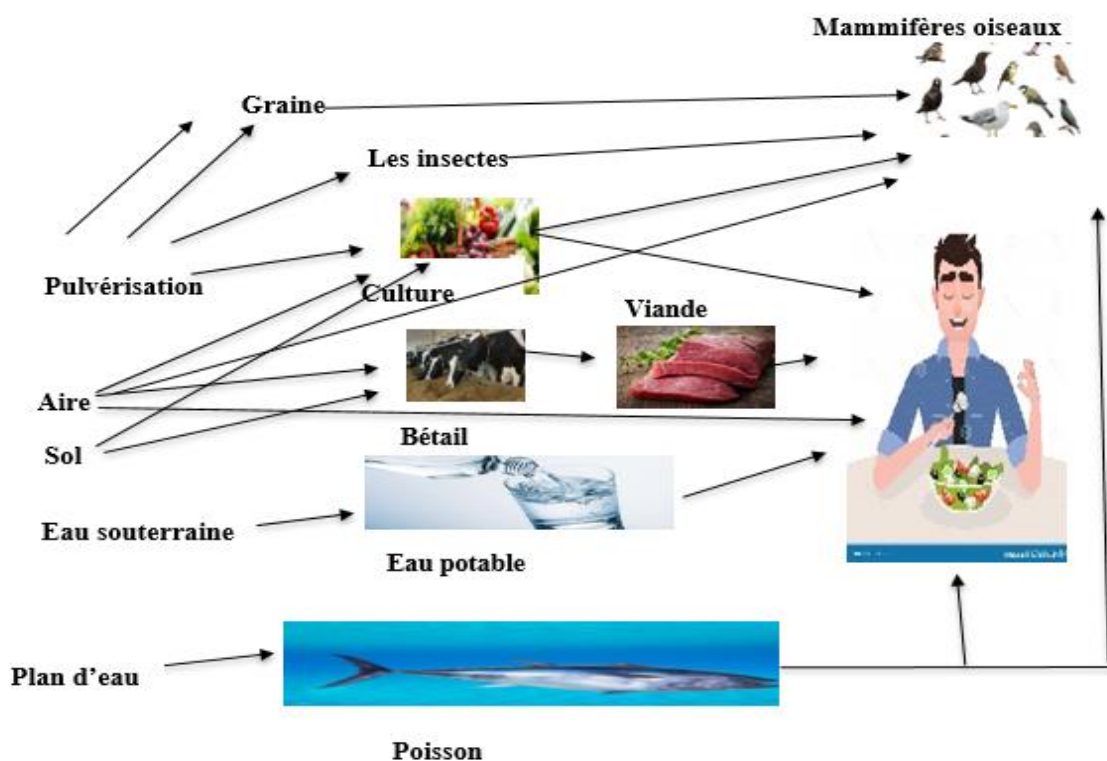


Figure 2: Les diverses voies possibles d'exposition de l'homme et des consommateurs terminaux aux micropolluants (Katsikantami et al., 2019).

III.2 Histoire du glyphosate

Le glyphosate (N-phosphonométhyl glycine) est un composé organophosphoré, il est utilisé comme un herbicide à large spectre pour éliminer les plantes indésirables dans le milieu agricole et non agricole. C'est un analogue de la glycine (acide aminé naturel) dont la fonction amine primaire sur laquelle a été substitué un atome d'hydrogène par un groupement phosphonométhyle. Le glyphosate appartient à la famille des aminophosphonates (Owagboriaye et al., 2017) .

Actuellement, le processus enzymatique qui est capable d'effectuer cette substitution est inconnu. Alors que le glyphosate est une molécule de synthèse, le premier qui a découvert La molécule active du glyphosate est Henri Martin à Schaffhouse (Suisse) en 1950. Quelques années plus tard (1970), l'un de ses collègues John E. Franz, un chimiste du groupe Monsanto a découvert son potentiel comme une substance active non sélective qui peut détruire les mauvaises herbes (herbicide). En fait, le glyphosate est toujours mélangé à d'autres substances chimiques, qui facilitent notamment sa pénétration à l'intérieur des cellules de la plante (Nandula, 2010).

Quatre ans plus tard, le glyphosate est commercialisé sous la marque Roundup. Le produit était initialement réservé aux agriculteurs. Mais le succès tel que Monsanto a décidé d'élargir l'accès aux jardiniers amateurs en 1988. Quelques années, le Roundup deviendra rapidement l'herbicide le plus utilisé dans le monde et ses ventes continuent de croître encore aujourd'hui (Williams et al., 2000).

En 1996, Monsanto développe des cultures génétiquement modifiées, conçues pour résister aux traitements par le Roundup. L'objectif est d'autoriser aux agriculteurs de pulvériser leurs champs sans avoir à cibler seulement les mauvaises herbes. Le brevet détenu par Monsanto est tombé dans le domaine public en 2000, et le produit du glyphosate est actuellement commercialisé par un grand nombre de firmes sous différentes formulations et sous différents noms de marques dans plusieurs pays à travers le monde (Williams et al., 2000).

III.3 Mode d'action dans la plante

Le glyphosate (GLP) est un dérivé d'acide aminé phosphonométhyle utilisé comme ingrédient actif dans certains herbicides. Dans les années récentes, la commercialisation des herbicides au glyphosate a augmenté en raison du développement de la culture de graines résistantes à cette molécule, telles que le maïs, le soja, le canola et le coton (Dill et al., 2008) .

Le glyphosate est un herbicide absorbé par les feuilles et les tiges, puis est transporté jusqu'aux racines par la sève. Il agit en inhibant l'enzyme 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), qui est localisée dans chloroplastes et indispensable pour biosynthèse des acides aminés aromatiques (tyrosine, phénylalanine et tryptophane) essentiels pour le développement, la croissance et la survie des plantes. En fait, l'EPSPS catalyse la synthèse du 5-énolpyruvylshikimate-3-phosphate (EPSP) à partir du phosphoénolpyruvate (PEP) et du shikimate-3-phosphate (**figure 3**). En plus, la molécule du glyphosate entre en compétition avec le phosphonoénolpyruvate (PEP) et elle lie directement à un possible site allostérique (elle ne se lierait pas directement dans le site actif de l'enzyme) provoquant un changement structural qui empêcherait le PEP de se lier. Par conséquent, le déficit en acides aminés aromatiques entraîne l'arrêt de la synthèse des protéines et de la formation de certains composés phénoliques (E.L.Naylor, 2002) .

La voie du shikimate est présente chez les plantes, les bactéries et les champignons. Néanmoins, les mammifères ne possèdent pas cette voie métabolique, les acides aminés aromatiques doivent faire partie de leur alimentation (Cerdeira et al., 2007).

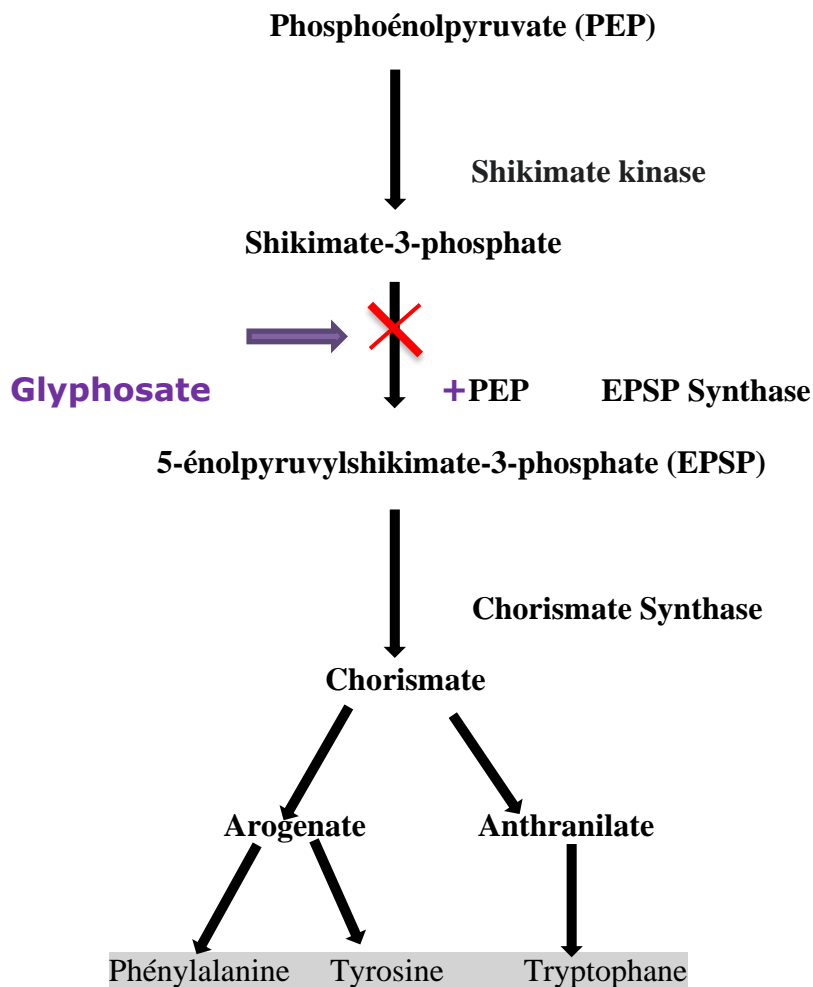


Figure 3: Biosynthèse des acides aminés aromatiques chez les végétaux supérieurs.

III.4 Contamination du sol et de l'eau par le glyphosate

La dégradation du glyphosate semble être principalement microbienne. En fait, le glyphosate contient une liaison C-P qui a une forte résistance à la dégradation chimique. La dégradation se produit par un processus biologique impliquant une C-P lyase produite par des microorganismes présents dans la rhizosphère de certaines plantes (Rainaud, 2013).

Le sol constitue le réceptacle final du glyphosate. Le comportement du glyphosate dans les sols ainsi que les différents procédés biologiques et physico-chimiques mis en jeu vont conditionner l'apparition de son caractère polluant et de sa dégradation. En général, il a été rapporté que les demi-vies du glyphosate et de son principal métabolite l'acide aminométhylphosphonique (AMPA) (**Figure 4**) varient dans le sol de 2 à 215 jours et de 60 à 240 jours, respectivement (Battaglin et al., 2014). Ils peuvent persister dans l'environnement sous forme de résidus dans les sols et les cultures jusqu'à à une durée de 3 ans (M. Martínez et al., 2020).

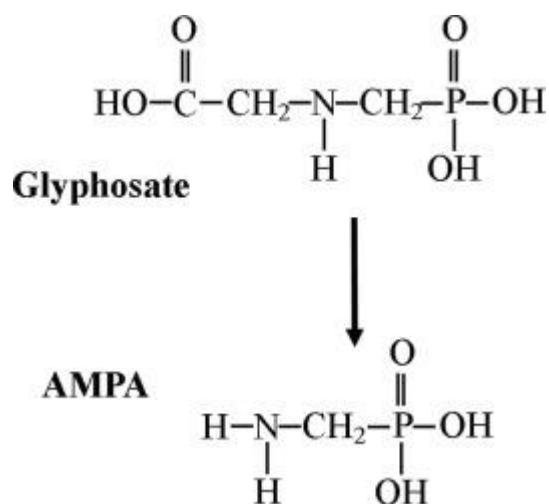


Figure 4: Structures chimiques du glyphosate et de son métabolite AMPA (M. Martínez et al., 2020).

Une fois appliqué, le glyphosate peut atteindre la culture, les mauvaises herbes et / ou la surface du sol. Dans le sol, cet herbicide peut être dégradé, retenu ou même migrer vers des couches plus profondes du sol. (Villarreal et al., 2020). En effet, la contamination du sol et de l'eau par le GLP et son interaction avec les éléments de l'environnement ont été évaluées par plusieurs études. Il a été montré que le GLP était capable d'interagir avec les particules d'argiles, ces interactions n'empêchent pas sa future solubilisation notamment en présence de phosphates (Shushkova et al., 2010; Simonsen et al., 2008). En plus, le GLP est également capable d'interagir avec les ions métalliques du sol. Une étude a montré que le GLP peut se lier à la matière organique par les cations qu'elles contiennent. Par ailleurs, l'adsorption est liée à la nature du composant de la matière organique du sol (Eker et al., 2006; Sprankle, 1975).

Le Glyphosate et l'AMPA sont parmi les pesticides les plus détectés dans les eaux souterraines et dans les eaux de surface. L'AMPA a été même retrouvé en quantité plus importante. En fait, il a été montré que les concentrations en GLP sont plus faibles que celles de l'AMPA dans le temps sec. Au contraire, par temps de pluie, ce sont les concentrations en AMPA qui deviennent les plus diminuées. Alors que, la dégradation du GLP en AMPA est favorisée par l'augmentation de la température (Narimani & Da Silva, 2020). De plus, le glyphosate et l'AMPA ont été détectés dans la grande majorité des échantillons d'eau de la région de Zurich, en Suisse, avec des concentrations médianes de 0,11 et 0,20 µg / L et 95% des concentrations de 2,1 et 2,6 µg / L, respectivement (Poiger et al., 2017). Le glyphosate dans les eaux de surface du sud de l'Ontario (Canada) a été étudié sur une période de 2 ans. La limite réglementaire en GLP des eaux de surface en Canada est de 65 µg/L. La concentration maximale en GLP retrouvée dans les eaux de surfaces était de 40,8 µg/L (Struger et al., 2008). Concernant les eaux

souterraines, des concentrations supérieures à 24 μ g/L en GLP ont été retrouvées en Europe et de 4,7 μ g/L en Amérique. Les concentrations révélées précédemment sont inférieures à la limite maximale établie pour la protection de la santé et fixée par l'agence de la protection de l'environnement (EPA) qui est de 700 μ g/L(K. Larsen et al., 2012).

Exposition au Glyphosate et effets sur la santé

Le glyphosate peut contaminer l'homme et les animaux. La contamination de l'organisme peut provoquer plusieurs effets néfastes sur le cerveau, le foie, les reins et la reproduction (**figure 5**).

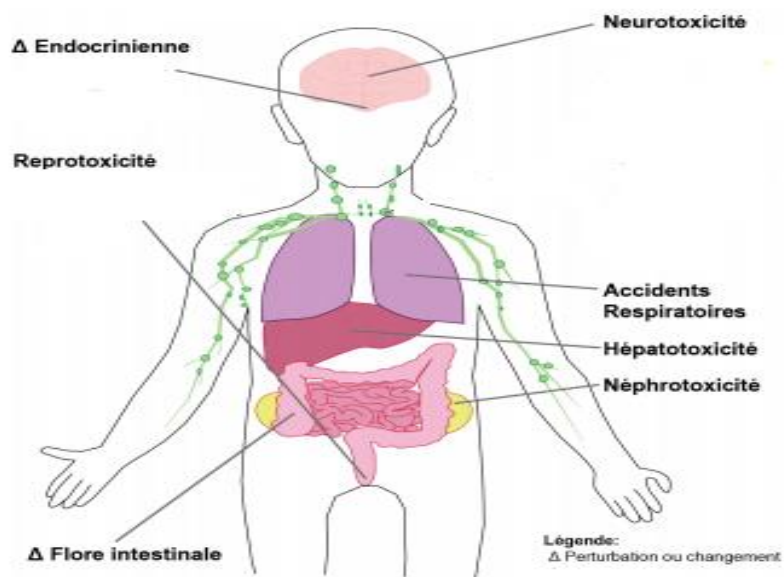


Figure 5:Effets toxiques suspectés chez l'humain (Équiterre, 2014).

III.5 Toxicité hépatique et rénale

Certaines substances chimiques qui arrivent au foie sont plus toxiques pour l'organisme. D'ailleurs, le rôle du foie est de dégrader ces substances par différents systèmes enzymatiques en produits non-toxiques. Les produits liposolubles sont reversés dans la bile, ensuite dans l'intestin, et puis éliminés dans les selles. Les produits hydro-solubles sont reversés dans la circulation sanguine, qui les mène jusqu'aux reins (élimine aussi les substances toxiques) : ils sont éliminés par les urines. Au fait, le foie et les reins sont parmi les premiers points cibles des intoxications alimentaires. A cet égard, il faut noter qu'il y a une augmentation de la fréquence des maladies rénales chroniques observée chez les agriculteurs (Jayasumana et al., 2015).

Les études sur la toxicité aiguë, du fait qu'ils utilisent généralement des doses comprises dans la limite des doses létales, ne sont pas très informatives sur les effets secondaires en cas d'exposition à l'environnement. Les symptômes d'exposition aiguë ont des caractéristiques et des mécanismes déjà bien connus (Antón et al., 1994; Bach et al., 2018; Brunetti et al., 2020; Sani & Idris, 2016; Trigueiro et al., 2021; Zocchi & Sommaruga, 2019).

Les effets de la toxicité du glyphosate dans le foie et les reins sont bien connus. Parmi lesquels la capacité du glyphosate à perturber la phosphorylation oxydative mitochondriale hépatique (Olorunsogo et al., 1979). Une diminution des indices respiratoires des mitochondries dépendants du succinate hépatiques a été observé chez le rat (Peixoto, 2005). de plus, une autre étude a confirmé que le glyphosate inhibe l'activité du succinate déshydrogénase (SDH) mitochondriale par une interaction du composé actif (du glyphosate) avec le site de liaison du complexe II (SDH) (Ugarte, 2014). Des études ont démontré des modifications des fonctions mitochondriales et des voies de transcription / épissage dans les hépatocytes chez les souris nourries de soja génétiquement modifié (GM) (traité par Glyphosate) (Malatesta et al., 2008). Ensuite, Astiz et al, ont constaté que le glyphosate induit un stress oxydatif, en raison de l'augmentation de la perméabilité de la membrane mitochondriale aux protons et au ions Ca^{2+} (Mariana Astiz et al., 2009). En effet, le Ca^{2+} est considéré comme l'un des principaux stimulateur de l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) mitochondriales car il favorise les altérations structurelles de la membrane mitochondriale interne (Kowaltowski & Vercesi, 1999). A noter aussi que 500mg/kg du glyphosate pendant 5 semaines ont causé un stress oxydatif dans les tissus hépatiques et rénaux chez les rats (Tang et al., 2017). Une faible capacité antioxydante dans le foie et les reins a été constatée chez les rats exposés au glyphosate ; des niveaux élevés de glutathion et de protéines oxydées dans le plasma et des concentrations réduites de l'alpha-tocophérol et la superoxyde dismutase dans le foie et le

cerveau (Astiz et al., 2009). Le glyphosate inhibe la glutathion réductase dans le foie, mais , il augmente ainsi le lactate déshydrogénase et γ -glutamyltransférase dans le foie et les reins (Astiz et al., 2009). Outre cela, une autre étude a montré une altération de la capacité antioxydante du foie chez les porcelets exposés au 40 mg/kg du glyphosate pendant 5 semaines : une augmentation de la SOD , GPX , H₂O₂ ,MDA et une diminution de la capacité antioxydante totale et de la catalase (CAT) (Fu et al., 2020). En accord avec Li et al., (2017) ; l'exposition chronique (90 jours) de GBH a induit des troubles des indices biochimique sanguins (ALAT ,ASAT et CRE), des lésions des tissus rénaux , des perturbations significatives dans le stress oxydatif (augmentation du niveau de MDA et diminution des niveaux de SOD, GSH-Px et glutathione reductase (GR)) , et aussi des altérations dans les réseaux métaboliques internes des tissus du foie et des reins chez poissons rouges (*Carassius auratis*) (Li et al., 2017). De plus ,l'exposition subchronique des rats wistar à partir de la dose la plus faible de GLP a provoqué une fuite des enzymes intracellulaires hépatiques (ALAT, ASAT),et une augmentation des cellules de Kupffer dans la sinusoïde hépatique (Benedetti et al., 2004). En addition, Jasper et al., (2012) ont observé des augmentations significatives des niveaux d'alanine aminotransférase (ALAT), d'aspartate aminotransférase (ASAT) et de γ -glutamyltransférase (γ -GT) chez les souris mâles et femelles traitées par GLP Dans la même étude, l'analyse hématologique a montré des altérations significatives, en raison des réductions des globules rouges, de l'hématocrite, de l'hémoglobine, et une augmentation significative de volume globulaire moyen (VGM) chez les deux sexes. Bien que, chez les mâles, une augmentation importante du MDA à la fois ainsi qu'une diminution du thiols non protéiques a été constatée dans le tissu hépatique (Jasper et al., 2012).

L'intoxication des porcelets par le GLP a induit une fibrose dans les hépatocytes, une altération au niveau du noyau hépatocytaire et de la membrane mitochondriale (Fu et al., 2020) . En outre , l'administration de 4 ng /l du Glyphosate aux rats pendant 2 ans présentait des signes de lésion hépatique accrue (Mesnage et al., 2017).Par ailleurs, l' exposition chronique à des doses ultra-faibles du GLP a montré des lésions hépatiques et rénales chez le rat (Mesnage et al., 2015). Par contre, une étude a apporté qu'il n'y a aucune preuve sur la lésion rénale chez les enfants exposés à de faibles niveaux de glyphosate (Trasande et al., 2020).

Dans des zones où prédominent des maladies rénales chroniques de cause inconnue, une recherche a montré que le glyphosate et l'acide aminométhylphosphonique (AMPA) se trouvent dans des eaux de surface, des eaux souterraines, des sols agricoles et des sédiments (Gunarathna et al., 2018).

III.6 Effet sur la reproduction

Chez l'homme le glyphosate peut causer des modifications physiopathologiques le long de l'axe hypothalamus-hypophysio-surrénalien et gonadique pouvant modifier la fonction de la reproduction en altérant la quantité et la qualité des spermatozoïdes, et les malformations congénitales (Benachour et al., 2012).

Les herbicides à base de glyphosate (GBH) peuvent également entraîner des troubles de la reproduction chez les animaux (Jarrell et al., 2020). En fait, une étude a montré le retard pubertaire et des modifications des niveaux de testostérone et de la morphologie des testicules chez les rats wistar exposés à 5 mg/kg p.c. du GLP (Romano et al., 2010). De même, l'exposition du GLP a entraîné une diminution de la testostérone des cellules testiculaires chez les rats adultes par rapport à leurs témoins (Clair et al., 2012). En effet, 50 mg/kg du GLP a altéré également le développement reproductif de la progéniture mâle en perturbant l'expression des gonadotrophines (Romano et al., 2012). D'ailleurs, il induit une altération de l'expression du gène régulé par l'estrogène dans les cellules humaines (Hokanson et al., 2007). Le glyphosate inhibe aussi les activités de transcription des récepteurs d'androgènes et d'œstrogènes à partir de 0,5 mg/L (Gasnier et al., 2009).

Le GLP induit un stress oxydatif, conduisant à la mort des cellules de Sertoli dans les testicules de rats (De Liz Oliveira Cavalli et al., 2013). Ensuite, il provoque une surcharge du calcium dans les testicules et perturbe également les fonctions reproductives mâles (la mort des cellules de Sertoli) (De Liz Oliveira Cavalli et al., 2013). D'autres chercheurs confirment que le glyphosate déclenche le stress oxydatif testiculaire chez les rats (Astiz et al., 2009) et l'altération des protéines ovariennes (Ganesan & Keating, 2020).

Les herbicides à base de glyphosate peuvent perturber la fonction hormonale normale d'un organisme non ciblé, entraînant plusieurs effets de perturbation endocrinienne (DE) : intersexualité, diminution de la spermatogenèse, papilles urogénitales asymétriques, lésions testiculaires et ovules stériles (Horak et al., 2021). Par conséquent, le glyphosate inhibe les cytochromes P450 dans la cellule humaine et celle du rat (Hietanen et al., 1983), ce qui pourrait induire certains effets sur le système endocrinien (Richard et al., 2005). L'exposition périnatale aux 0.5 et 5 mg/kg de glyphosate et à un herbicide à base de glyphosate affecte la spermatogenèse chez la souris (diminution de 89 % et 84 % du spermatozoïdes) (Pham et al., 2019). En effet, une dose de 0.36 mg/l du GLP exerce des effets toxiques sur la motilité progressive des spermatozoïdes humains (Anifandis et al., 2018). En outre, le nombre total de

spermatozoïdes chez les rats exposés à 500 mg / kg du glyphosate (pendant 5 semaines) était significativement diminué par rapport à celui du groupe témoin (Dai et al., 2016). Une autre étude a confirmé que le glyphosate cause une diminution des concentrations de spermatozoïdes (Cai et al., 2017).

Quelques études épidémiologiques sur les femmes de l'Ontario (Canada) ont démontré que l'exposition à un herbicides à base de glyphosate a été associée à une réduction de la fertilité (d'au moins 20 %) (Curtis et al., 1999). Dans le centre de l'Indiana (USA), une étude sur 71 femmes enceintes (âge moyen de 29 ans) a été signalé une association entre l'exposition au glyphosate et le raccourcissement de la durée de la gestation (Parvez et al., 2018). Une étude sur les rats femelles wistar exposés aux 126 mg/kg et 315 mg/kg du GBH pendant 60 jours a révélé une folliculogénèse altérée, une diminution de la sécrétion d'œstrogènes, des altérations des aspects histologiques des ovaires, et une nécrose cellulaire (Hamdaoui et al., 2018). En plus, le GLP inhibe la stéroïdogénèse (Walsh et al., 2000). Par contre, une exposition chronique (pendant dix semaines) des souris femelles à de faible dose (2 mg / kg) du GLP n'a pas affecté le gain de poids corporel, le poids des organes, le nombre de follicules ovariens ou l'abondance des protéines et la stéroïdogénèse (Ganesan et al., 2020). En addition, une étude réalisée sur la truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss* exposée à de faibles doses de GLP (environ 1 µg/l) pendant 10 mois : n'a révélé aucune perturbation dans les paramètres de reproduction et le stress oxydatif ou les paramètres du métabolisme (Du-Carrée et al., 2021). Alarcon et al., (2019) ont démontré que l'exposition à 2mg/kg du GBH pendant 45 jours n'a pas affecté le poids ovarien ou utérin chez les agneaux de brebis. Par contre, le GBH a modifié l'expression génique et la dynamique folliculaire ovarienne (Alarcón et al., 2019).

III.7 Effets neurotoxiques du glyphosate.

Les pesticides en général, comme la plupart des xénobiotiques affectent le système de communication entre les cellules. Ainsi, ces contaminants perturbent non seulement le système endocrinien, mais interagissent également avec les fonctions du système nerveux, et peuvent favoriser les effets épigénétique (Mesnage and Séralini, 2014). Plusieurs études montrent que l'exposition aux pesticides pourrait être un facteur de risque de développement des maladies neurodégénératives, avec l'augmentation de l'incidence de la maladie de Parkinson et de la maladie d'Alzheimer (Aloizou et al., 2020; Li et al., 2021; Shrestha et al., 2020; Wang et al., 2006).

Les pesticides comme les organophosphorés (OP) sont largement utilisés dans l'agriculture, l'horticulture, la médecine vétérinaire et les ménages. La plupart des OP sont facilement absorbés par la voie orale, cutanée, gastro-intestinale et respiratoire, et ont la capacité d'inhiber la cholinestérase chez les insectes et les mammifères (Marrs, 1993). L'acétylcholinestérase (AChE) et la butyrylcholinestérase (BChE) sont les membres les plus pertinents au sein de la famille des enzymes cholinestérases.

L'AChE est une enzyme estérase nécessaire au fonctionnement des synapses du système nerveux central et de la jonction neuromusculaire. En effet, cette enzyme extracellulaire hydrolyse en quelques millisecondes l'acétylcholine libre dans la fente synaptique, en acétate et choline. Elle fournit un des moyens de mettre un terme à l'activation des récepteurs cholinergiques (Larsen et al., 2016). Une étude a révélé que l'activité catalytique de l'AChE augmente progressivement dans le jeune âge pour atteindre son maximum à l'âge adulte. Chez le rat, elle est de 30% au jour post-natal 5 (PND5), passe à 50% au PND 12, monte encore à 75% au PND 21 et atteint son maximum au PND 60. En effet, l'inhibition de l'AChE provoque une accumulation de l'acétylcholine libérée dans la fente synaptique lors d'une stimulation nerveuse, menant à une hyperstimulation des récepteurs cholinergiques. En conséquence, le passage de l'information nerveuse est perturbé jusqu'au non fonctionnement des synapses, ce qui peut mener à l'apparition de divers troubles nerveux pouvant aller jusqu'à la mort de l'individu (Lotti, 1995).

Par conséquent, le diagnostic définitif de la toxicité des OP nécessite la mesure de l'activité de l'AChE dans le sang et/ou de la BChE dans le sérum des animaux ou des êtres humains exposés à ces pesticides (Tafari, 1987). En outre, la mesure de l'inhibition de l'AChE a été utilisée comme biomarqueur de l'effet après l'exposition aux OP (Lionetto et al., 2013). L'utilisation massive des OP pour la lutte contre les parasites entraîne le rejet de grandes quantités de ces composés dans l'environnement (Lionetto et al., 2013). Dès lors, les organismes non cibles (y compris les êtres humains) pourraient être exposés à ces pesticides par le biais d'une contamination de l'environnement ou d'une utilisation professionnelle.

C'est généralement le cas des OP qui inhibent l'activité de l'acétylcholinestérase à la jonction neuromusculaire. Ce paramètre a fait l'objet d'un débat pour le GLP. Une étude a rapporté les effets du glyphosate sur l'acétylcholinestérase sérique in vitro (El-Demerdash et al, 2001).

Les effets neurotoxiques du glyphosate et de l'herbicide à base de glyphosate (GBH) restent incertains, en particulier à des doses pertinentes pour l'environnement. Plusieurs études sur des

espèces non mammifères ont montré une inhibition de l'acétylcholinestérase par le GLP. Par exemple, le GLP a inhibé l'acétylcholinestérase dans le cerveau de *Cnesterodon decemmaculatus* à partir de 1 ppm (Menéndez-Helman et al., 2012). Cette enzyme est en fait inhibée dans divers modèles par des doses de GBH dans l'ordre des ppm chez *Cyprinus carpio* (Cattaneo et al., 2011), *Prochilodus lineatus* (Modesto & Martinez, 2010), les têtards amphibiens (Lajmanovich et al., 2011), *Leporinus obtusidens* (Gluszczak et al., 2006; Salbego et al., 2010), et le poisson-chat argenté (Gluszczak et al., 2007).

Il est intéressant de noter que la plupart de ces études ont porté sur des concentrations de GLP dans l'environnement (de 0,2 à 5 mg/L) et que l'inhibition de l'AChE était comprise entre 20 et 30 % par rapport à ses niveaux d'activité de base. En plus de cela, une faible inhibition (entre 13 et 20 %) de l'activité de l'AChE a été également observée lorsque des érythrocytes humains ont été incubés avec des concentrations élevées (0,25 à 5 mM) du GLP, qui ne se retrouveraient dans le plasma qu'après une exposition aiguë de cet herbicide (Kwiatkowska et al., 2014). Sur la base de ces observations, la présente recherche a été conçue pour obtenir des informations supplémentaires sur les effets du glyphosate contre l'AChE chez les souris.

L'acide glutamique, ou glutamate, est l'un des vingt acides aminés qui constituent les protéines. Il présente dans le cerveau à forte concentration (Curtis & Phillis, 1960). Il est formé dans les mitochondries des neurones suivant deux voies : soit par une transamination de l'alpha-cétoglutarate (un métabolite du cycle de Krebs mitochondrial), soit par une désamination oxydative de la glutamine par l'enzyme glutaminase (Krebs & Johnson, 1937). En fait, la glycine et d'autres acides aminés comme le glutamate agit comme un neurotransmetteur et joue un rôle important dans le fonctionnement du cerveau soulève le questionnement sur les effets neurologiques du glyphosate.

Le glyphosate entraîne une dégénérescence des neurones dopaminergiques au niveau des ganglions de la base chez le *Caenorhabditis elegans* (petit nématode) a pour conséquence un déséquilibre total au niveau des neurotransmetteurs (notamment le glutamate et l'acide γ -aminobutyrique (GABA)) (Duty, 2010; Negga et al., 2012). Cette étude apporte un lien entre la maladie de parkinson et le GLP.

Cattani et al ; (2014) ont signalé que l'exposition au GLP peut réduire l'absorption et le métabolisme du glutamate par les cellules gliales. En outre, il augmenterait la libération de ce neurotransmetteur dans la fente synaptique. En fait, cet herbicide inhibe donc les voies de l'aspartate aminotransférase (ASAT), de l'alanine aminotransférase (ALAT) et de la glutamine

synthétase. Il y a donc une inhibition de l'absorption du glutamate et de ses métabolites par les astrocytes de l'hippocampe exposé à l'herbicide. Ce taux excessif de glutamate extracellulaire entraîne une intoxication des cellules neuronales. En effet, le glutamate va activer les récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA) et les canaux calcium voltage dépendants des types de L-VDCC ; il y aura un afflux de calcium à l'intérieur des cellules pyramidales de l'hippocampe, ce qui a conduit à un stress oxydatif et à la mort des cellules (Cattani et al., 2014) (**figure 6**).

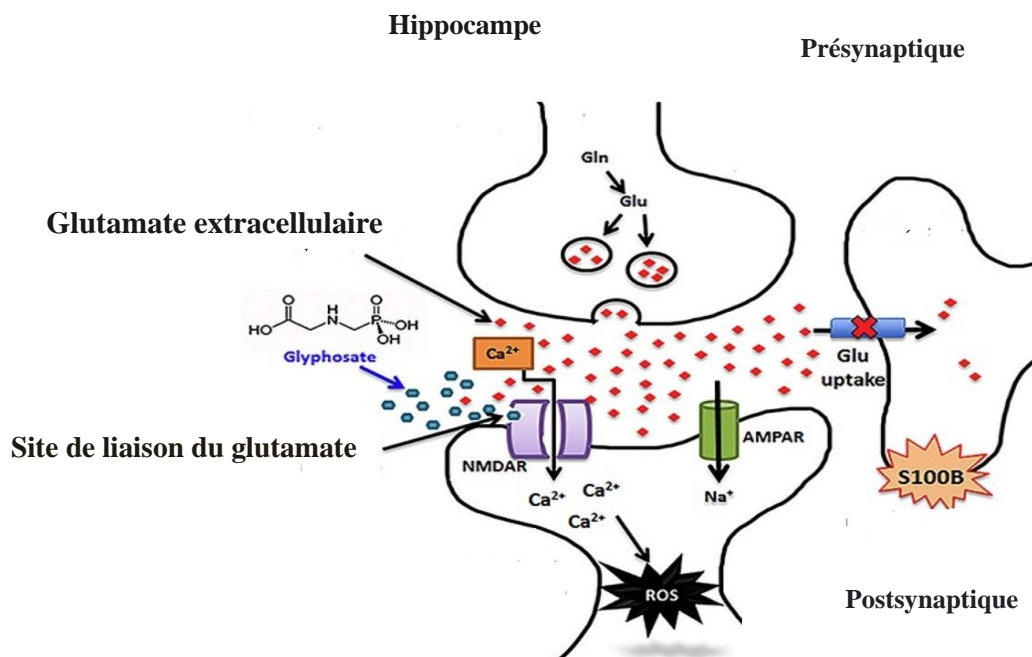


Figure 6: Proposition du mécanisme de neurotoxicité du glyphosate dans l'hippocampe de rat (Cattani et al., 2014).

III.8 L'effet du glyphosate sur le microbiote

Le microbiote est l'ensemble des micro-organismes, bactéries, microchampignons et protistes vivant dans un environnement spécifique (appelé microbiome). Le microbiome se situe à l'intérieur du système digestif. Le système nerveux entérique est la partie du système nerveux autonome qui est constitué d'un réseau de neurones formant un plexus nerveux, qui est interconnecté avec le système nerveux central (SNC) et qui contrôle le système digestif (Furness et al., 2014). Des études sur les animaux ont montré que les microorganismes intestinaux peuvent activer le nerf vague et que cette activation joue un rôle essentiel dans la médiation des effets sur le cerveau et le comportement (Forsythe et al., 2014).

Dans la littérature, il a été rapporté que le GLP pourrait causer une dysbiose, un phénomène qui se caractérise par un déséquilibre entre les microorganismes bénéfiques et pathogènes. Par

conséquent, il a un effet sur le système nerveux central et d'autres troubles neurobiologiques, en raison de l'axe intestin-cerveau (Rueda-Ruzafa et al., 2019). En effet, une diminution du nombre total des bactéries intestinales (*Corynebacterium*, Firmicutes, Bacteroidetes et *Lactobacillus*) a été constatée chez les souris traitées par des doses 250 et 500mg/kg de GBH (Aitbali et al., 2018; Lozano et al., 2018; Q. Tang et al., 2020).

III.9 Sensibilité particulière de l'organisme en développement

Jusqu'à récemment, plusieurs études ont été focalisées sur l'évaluation des effets indésirables et liés à une exposition à des substances chimiques chez l'adulte.(Fagan et al., 2020; Landrigan & Goldman, 2011). Peu d'études ont été apportées pour l'organisme à des stades de vie plus sensibles, comme la période de développement fœtal ou la petite enfance (Landrigan et al., 2004).

La sensibilité accrue de l'organisme en développement en général, et plus particulièrement du système nerveux en développement, par rapport à un organisme mature est la résultante de plusieurs facteurs :

- L'enfant est souvent plus exposé que l'adulte, pour des niveaux de contamination environnementale équivalents. Cela peut être expliqué de différentes manières. Tout d'abord, par rapport à leur poids corporel, les enfants consomment plus de nourriture, et ils ont des besoins énergétiques plus importants que les adultes (Landrigan et al., 2002) . Ils peuvent être exposés à des grande quantités de contaminants (par exemple les pesticides) contenus dans les produits alimentaires par rapport aux adultes (Sly & Flack, 2008). En outre, le comportement d'exploration des enfants (par exemple ; introduire un grand nombre d'objets dans la bouche), représente un autre facteur qui peut augmenter le niveau d'exposition d'un enfant (Graeter et al, 1996) Enfin, le lait maternel, seule nourriture pour les nouveau-nés, représente un important vecteur de nombreux composés chimiques liposolubles, auxquels peut être exposé l'organisme après la naissance (Weiss, 2000).

- Le métabolisme de l'organisme en développement est encore immature, ce qui induit une diminution des capacités de détoxification (Grandjean & Landrigan, 2006), et le rend donc plus sensible à certains agents chimiques par rapport à un organisme adulte. Le fœtus, par exemple, dépend essentiellement des capacités de métabolisation de sa mère, puisque les enzymes de cytochrome P450 sont peu actives, bien que présentes (Dorman et al, 2001). En général, les enzymes du métabolisme des molécules chimiques polluantes (xénobiotique) commencent à se développer à partir du milieu de la grossesse et atteignent le niveau du corps adulte (Sly &

Flack, 2008). Néanmoins, chez le jeune enfant, par exemple, certaines enzymes impliquées dans le contrôle du stress oxydant ne sont pas exprimées à des niveaux comparables à ceux de l'adulte, ce qui le rend particulièrement sensible au stress oxydant (Sly & Flack, 2008). L'immaturation des systèmes enzymatiques de détoxification augmente la quantité de contaminants dans l'organisme. Cela peut représenter un risque de toxicité important pour l'organisme en développement (Sly & Flack, 2008).

- Le système nerveux en développement est très sensible à l'influence des facteurs environnementaux pendant la gestation et la période néonatale. En effet, il reste plus vulnérable à beaucoup d'agents que le système nerveux mature (Miodovnik, 2011; Sagredo et al., 2018; Sly & Flack, 2008; Tilson, 1998). En fait, Les mécanismes de développement du système nerveux central ne sont pas les mêmes en périodes postnatale ou prénatale. Ainsi, chez le rat, l'organogénèse et l'histogénèse du cerveau sont terminées en période prénatale, et la neurogénèse et la migration neuronale sont achevées vers PND10. En revanche, la synaptogénèse, la gliogénèse et la myélinisation continuent en période post-natale, et ne sont finies qu'à la maturité de l'animal, vers PND35-45 (Dubovický et al., 2008; Rice & Barone, 2000). En plus, le cerveau du rat connaît une période de croissance et de maturation rapide vers PND10-12, qui est atteinte chez l'Homme en période prénatale, vers la naissance (Dubovický et al., 2008). La synaptogénèse chez le rat a lieu presque exclusivement pendant les trois premières semaines de vie, alors que chez l'Homme, elle atteint un pic à l'âge de deux ans (Patricia M. Rodier, 2004) et se poursuit jusqu'à l'adolescence (Rice & Barone, 2000).

En général, le développement cérébral est ainsi une longue succession de nombreux processus complexes, précisément contrôlés, et finement régulés dans le temps (prolifération cellulaire, migration, différenciation, synaptogénèse, apoptose, myélinisation), mais très sensibles, notamment à l'action de substances environnementales (pesticides, métaux lourds ...etc) (Grandjean & Landrigan, 2006; Mendola et al., 2002; Weiss, 2000). Alors que, la complexité du système nerveux et de son développement offre alors une multitude de mécanismes par lesquels des agents toxiques peuvent induire des dommages (Slikker et al., 2005; Walker, 2005).

D'ailleurs, des études ont identifié des périodes de vulnérabilité, c'est-à-dire des stades critiques du développement, durant lesquels l'exposition d'une personne à des agents toxiques peut entraver son développement normal et causer des dommages importants (Miodovnik, 2011; Landrigan & Goldman, 2011). Pendant la période de croissance du cerveau, la maturation des

axones et des dendrites, établissement des connections neuronales, synaptogénèse, prolifération des cellules gliales, et la myélinisation (les différentes phases de développement fondamentales) représentent autant de fenêtres pour l'induction d'effets neurotoxiques persistants (Andersen et al., 2000), absolument uniques, et n'ayant pas de contreparties chez l'adulte (Grandjean & Landrigan, 2006).

Finalement, selon la durée et la période d'exposition, il existe un large spectre de déficits structuraux ou fonctionnels (Miodovnik, 2011) et une exposition avec la même substance peut finalement entraîner en une grande variété de troubles (Patricia M. Rodier, 2004).

III.10 Transfert placentaire et via le lait maternel de contaminants.

Pendant les périodes initiales de développement, le jeune est principalement exposé à des substances potentiellement toxiques via sa mère. Le développement normal du fœtus dépend donc en grande partie du niveau d'exposition de la mère à certains contaminants (Graeter, 1996). Les deux principaux types de transfert de contaminants (composés chimiques toxiques) de la mère vers le jeune sont le transfert placentaire pendant la grossesse, et le transfert via le lait maternel pendant les premiers mois de vie postnatale. Le transfert d'un composé de l'organisme maternel à l'organisme du jeune dépend de la dose administrée à la mère, et des caractéristiques pharmacocinétiques dans les différents compartiments (organismes de la mère et du jeune, placenta, lait maternel) (Dorman, 2001). En fait, ces deux modes de transfert ne sont pas identiques en termes de facteurs pharmacocinétiques, et peuvent donc conduire à des doses disponibles différentes chez le jeune, pour une même exposition de la mère (Barton, 2005).

Le placenta est un organe unique qui relie physiquement et biologiquement l'embryon en développement à la paroi utérine. Tout au long de la grossesse, le placenta fournit à l'embryon, puis au fœtus des nutriments (Andersen et al., 2000; Jeong et al., 2018). Le fœtus n'est exposé aux contaminants toxiques que par le biais du placenta, qui est considéré comme un milieu qui reflète l'exposition chimique de la mère pendant la grossesse et tout au long de sa vie (Leino et al., 2013; Vizcaino et al., 2014). De plus, le placenta peut empêcher le transfert de certains polluants, mais il est démontré que les POP, même ceux de poids moléculaire élevé, peuvent atteindre les fœtus (Vizcaino et al., 2011).

Finalement, le transfert de contaminants pendant la grossesse peut avoir des conséquences sur la santé du fœtus. Les fœtus sont plus vulnérables que les adultes à l'exposition chimique car leur système immunitaire et leurs mécanismes de détoxification ne sont pas complètement développés (Vizcaino et al., 2014). Par conséquent, l'exposition prénatale et développementale

aux POP a été associée à une croissance fœtale altérée (Govarts et al., 2018; Weight et al., 2012), à des perturbations endocriniennes, à des maladies métaboliques (Tang-Péronard et al., 2015), un développement cognitif et neurologique réduit (Berghuis et al., 2018; Kyriklaki et al., 2016; Lam et al., 2017), des impacts sur la santé respiratoire (Gascon et al., 2014), et l'adiposité et l'hypertension au début de l'enfance (Vafeiadi et al., 2015).

Après la naissance, le lait maternel est considéré comme la meilleure alimentation pour les nouveau-nés afin d'obtenir une croissance, un développement et une santé optimale. C'est pour cette raison que l'Organisation mondiale de la santé (OMS) recommande l'allaitement maternel exclusif pendant les six premiers mois de la vie (Ms & Kakuma, 2012). Cependant, l'exposition du jeune à certains agents peut continuer via le lait maternel (David C. Dorman, 2001), qui constitue un milieu efficace pour le transfert de substances chimiques lipophiles de la mère vers l'enfant (Weiss, 2000).

La présence de POP dans l'environnement et dans la chaîne alimentaire peut entraîner des concentrations élevées de polluants dans le lait maternel (Aerts et al., 2019; Landrigan et al., 2002). De plus, l'exposition à des substances présentes dans l'environnement, telles que les métaux lourds et les pesticides, peut contaminer le lait humain (D'Apolito, 2013; Mehta et al., 2020). Des études ont montré que certains xénobiotiques (DDT) sont retrouvés dans le lait maternel (Limon-Miro et al., 2017).

Plus de 20 % des polluants peuvent être transférés au nouveau-né par l'allaitement et stockés dans le corps en fonction de l'affinité de la molécule du polluant et de la composition corporelle de la personne (Gebremichael et al., 2013; Lackmann et al., 2005). Les pyréthroïdes et les pesticides organochlorés sont bioaccumulés dans les organismes en raison de leur coefficient de partage octanol/eau élevé, ce qui augmente leur lipophilie et facilite leur accumulation dans les tissus riches en graisse. Pour cette raison, les pesticides sont transférés passivement du plasma au lait maternel et leur concentration est proportionnelle à leur liposolubilité (Lackmann et al., 2005; Waliszewski et al., 2012). Une étude a montré que l'exposition de l'enfant via le lait maternel peut alors être cent fois supérieure à celle de la mère, proportionnellement à leur poids respectif (Dorman, 2001; Grandjean & Landrigan, 2006).

La contamination du lait maternel pendant l'allaitement peut avoir des risques sur la santé du nouveau-né. Parmi les risques pour la santé, on a trouvé que les pesticides présentes dans les échantillons de lait maternel sont associées à des effets sur le développement (Beth & Rogan, 2000; Karmaus et al., 2002) et l'infertilité (Gerhard et al., 1999). L'exposition prénatale aux

pesticides a déjà été associée à des effets néfastes sur la santé des nouveau-nés, tels que la réduction du poids à la naissance (Govarts et al., 2012), la réduction du périmètre crânien (Müller et al., 2017) et le retard du développement mental et psychomoteur (Ribas-Fitó et al., 2003). Il est très important de déterminer l'impact sur la santé des nouveau-nés exposés après la naissance par l'allaitement maternel. En outre, plusieurs études confirment le rôle des pesticides en tant que neurotoxiques (Kao et al., 2019; Saeedi Saravi & Dehpour, 2016).

IV. Stress Oxydant

IV.1.1 Définition

Le stress oxydant se définit comme étant le résultat d'un déséquilibre de la balance entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les capacités cellulaires antioxydantes (Pincemail et al., 2002) (**Figure 7**). Le déséquilibre peut résulter d'un manque de capacité antioxydante causé par une perturbation de la production, de la distribution, ou par une surabondance d'ERO provenant de sources endogènes ou de facteurs de stress environnementaux. S'il n'est pas régulé correctement, l'excès d'ERO peut endommager les lipides cellulaires, les protéines ou l'ADN, inhibant ainsi les voies de transduction du signal, et la fonction cellulaire normale. Pour cette raison, le stress oxydatif a été impliqué dans une liste croissante de maladies humaines telles que les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives et le cancer ainsi que dans le processus de vieillissement (Brenneisen et al., 2005) (**Figure 7**).

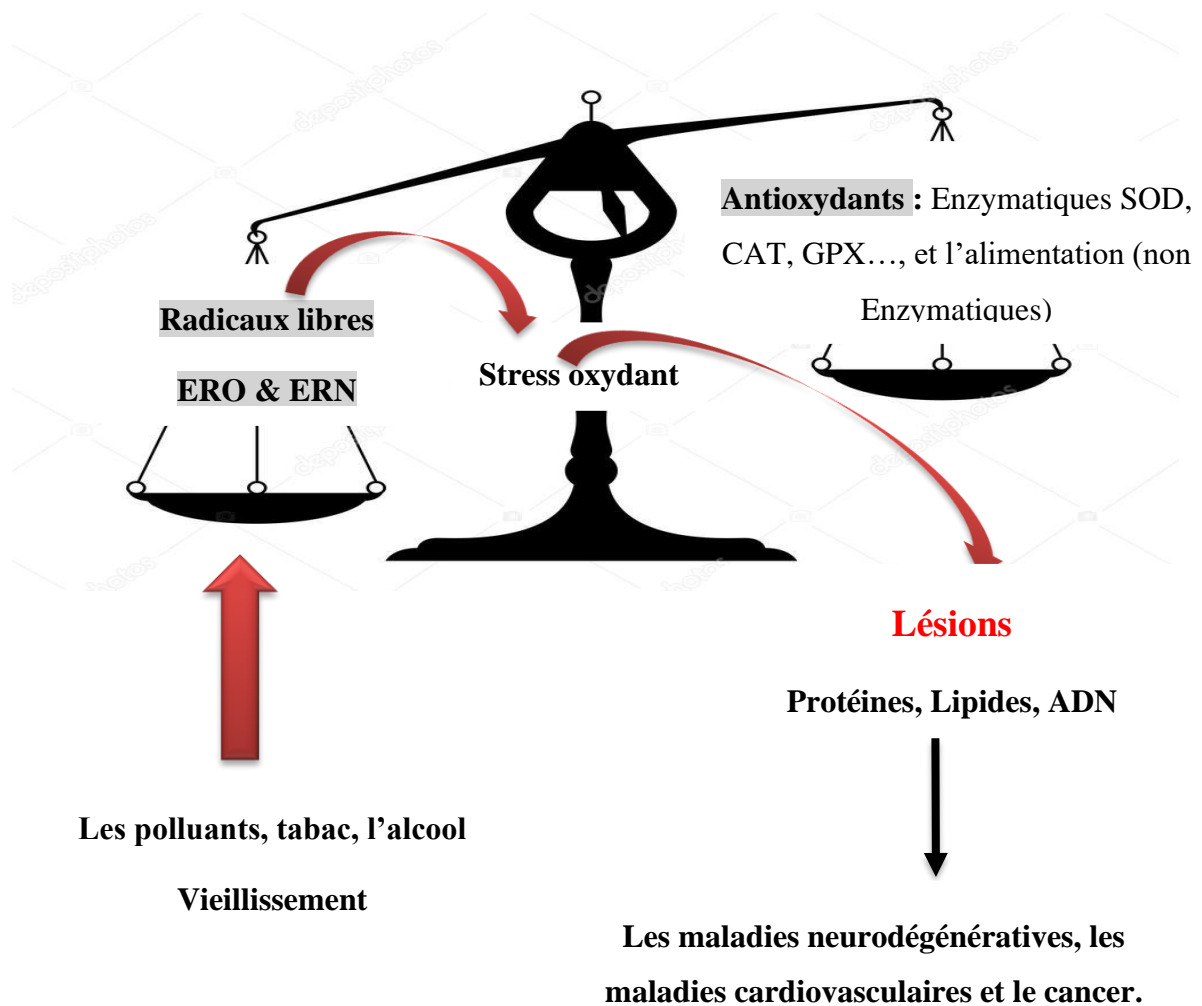


Figure 7: Schéma montrant le stress oxydant, qui est un état de déséquilibre entre le système de défense par les antioxydants et la surproduction des radicaux libres. ERO : espèces réactives de l'oxygène ; ERN : espèces réactives de l'azote (Belaich & Boujraf, 2016).

IV.2 Radicaux libres

IV.2.1 Généralités sur les radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules très réactifs ayant un ou plusieurs électron(s) non apparié(s) dans leur enveloppe externe et peuvent se former lorsque l'oxygène interagit avec certaines molécules (Chandrasekaran et al., 2017). Ces radicaux peuvent être produits dans les cellules en perdant ou en acceptant un seul électron, et se comportent donc comme des oxydants ou des réducteurs (Lobo et al., 2010), ce phénomène pouvant se propager par des réactions en chaîne (Carrière et al., 2006).

La durée de vie des radicaux libres est extrêmement très courte de la nano à la milliseconde, et il est symbolisé par un point qui indique où l'électron libre se situe (Finaud et al., 2006; Goto, 2008).

IV.2.2 Les radicaux libres biologiques

La présence de radicaux libres dans les matériels biologiques a été découvert il y a moins de 50 ans (Commoner et al., 1954; Dröge, 2002). Par la suite, Denham Harman a émis l'hypothèse que les radicaux d'oxygène pourraient être formés comme sous-produits de réactions enzymatiques in vivo. En 1956, il a décrit les radicaux libres comme une boîte de Pandore qui peuvent expliquer les dommages cellulaires importants, la mutagenèse, le cancer, et surtout, le processus dégénératif du vieillissement biologique (Dröge, 2002; Harman, 1981).

L'oxygène est un élément indispensable à la vie des organisme aérobies. En fait, les radicaux libres sont formés le plus souvent par gain d'électron à partir de l'O₂ (Dröge, 2002). Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (molécules contenant de l'oxygène) représentent, réellement, la classe la plus importante d'espèces radicalaires générées dans les organismes vivants à cause de l'importance de leur métabolisme aérobie (Valko et al., 2007). Néanmoins, d'autres espèces radicalaires doivent encore être prises en considération, à savoir les espèces réactives de l'azote (ERN) (Palmer et al., 1988).

Les radicaux libres peuvent être formés par trois procédés :

- Addition d'un électron libre à un non radical ($\text{NR} + \text{e}^- \rightarrow \text{R}^{\bullet}$) ;
- Perte d'un électron par un non radical ($\text{NR} - \text{e}^- \rightarrow \text{R}^{\bullet}$) ;
- Scission homolytique d'une liaison covalente ($\text{A} : \text{B} \rightarrow \text{A}^{\bullet} + \text{B}^{\bullet}$)

Les radicaux libres comme l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et le radical hydroxyle ($\bullet OH$), et des composés réactifs oxydants non radicalaires (sans électrons libres dans leur couche externe) comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'oxygène singulet (1O_2) et l'ozone (O_3) sont généralement des espèces réactives oxygénées (ERO, ou ROS Reactive Oxygen Species) ; ils sont générés en tant que sous-produits métaboliques par des systèmes biologiques (Garrel et al., 2007)(**Tableau I**). De plus, Les espèces réactives azotées (ERA, ou Reactive Nitrogen Species (RNS)) sont définies comme un sous-groupe d'oxydants dérivés de l'oxyde nitrique ou du monoxyde d'azote ($\bullet NO$). Cela a poussé certains auteurs à parler de RONS (Reactive Oxygen and Nitrogen Species) au lieu de ROS pour définir toutes les espèces réactives oxydantes radicalaires ou non radicalaires (**Tableau I**).

Tableau I: Principales espèces réactives oxydantes (ERO) organiques(Valko et al., 2007).

ERO	Abréviations
<u>Espèces oxygénées actives</u>	EOA
Radical (Ion, Anion) Superoxyde	$O_2^{\bullet-}$
Radical Hydroperoxyde	HO_2^{\bullet}
Peroxyde D'hydrogène	H_2O_2
Radical Hydroxyle	$\bullet OH$
Singulet Oxygène	1O_2
Ozone	O_3
<u>Espèces azotées actives</u>	EAA
Oxyde Nitrique ou monoxyde d'azote	$\bullet NO$
Dioxyde d'azote	$\bullet NO_2$
Peroxynitrite	$ONOO^{\bullet}$

IV.3 Mécanismes de production des principales ERO

IV.3.1 ERO radicalaires

- L'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$)

C'est l'espèce la plus couramment générée par la cellule, par réduction d'une molécule d' O_2 (Wolin, 1996). Il constitue le précurseur de la plupart des ERO et induit les réactions oxydatives en chaîne (Abele et al., 2002)



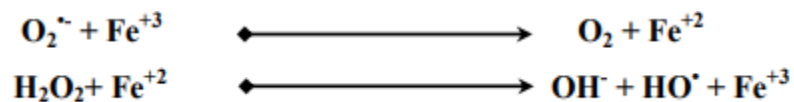
Les radicaux superoxydes ne sont pas très réactifs. La faible réactivité de ces radicaux permet leur utilisation par l'organisme comme médiateurs régulant les fonctions biologiques (Favier, 2003).

Le radical hydroxyle HO^{\bullet}

Selon la réaction d'Haber-Weiss ; la génération du radical hydroxyle (HO^{\bullet}) peut être induite par la réduction de l' H_2O_2 en produisant alors un ion OH^- inoffensif et un radical hydroxyle HO^{\bullet} .



Cette réaction est très lente et certainement inefficace dans les tissus vivants. Mais en revanche, en présence du cuivre cuivreux ou du fer ferreux (métaux de transition), le H_2O_2 peut se décomposer en OH^- et HO^{\bullet} selon la réaction de fenton (Goldstein et al., 1993).



Ce radical hydroxylé a une durée de vie très brève et incapable de franchir les membranes, il a une vitesse de réaction très grande avec la majorité des molécules (l'ADN, les protéines, les sucres et les lipides membranaires) (Bonfont-Rousselot et al, 2003).

L'oxyde nitrique (NO^{\bullet})

L'oxyde nitrique est un gaz qui ainsi traverse les membranes. Il n'est réellement néfaste pour la cellule que lorsqu'il est présent en grande quantité et produit ainsi un autre ERO : le peroxyde nitrique NO_2^{\bullet} . En fait, NO^{\bullet} est par l'enzyme oxyde nitrique synthase (NOS) à partir de l' O_2 et l'acide aminé L'arginine (Bonfont-Rousselot et al, 2003).

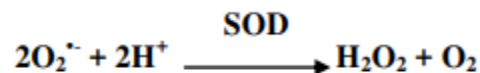
IV.3.2 ERO non radicalaires

L'oxygène singulet (1O_2)

L'oxygène singulet (1O_2) n'est donc pas radicalaire et correspond à une forme excitée de l'oxygène O_2 . Son état « excité » lui confère un potentiel oxydant supérieur à celui de l' O_2 (Bonfont-Rousselot et al, 2003). L'oxygène singulet est principalement produit dans le vivant suite à une exposition à des rayons lumineux (Freinbichler et al., 2011).

Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2

Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 est appelé également eau oxygénée. Il est généré dans le peroxyosome, les microsomes et les mitochondries par une réaction de dismutation (Ramirez et al., 2009).



Le peroxyde d'hydrogène est très lipophile et peu réactif en milieu aqueux à cause de l'absence de charge à sa surface (Cash et al, 2007). En effet, H_2O_2 peut traverser les membranes des cellules et des organites cellulaires pour engendrer des dommages oxydatifs (Pham-Huy et al, 2008).

Le peroxynitrite (NO_3^-)

Son apparition est extrêmement rapide, Le NO devient nocif pour les cellules en particulier en réagissant avec l' $O_2^{\bullet-}$ pour former un puissant agent oxydant, le peroxynitrite ($ONOO^{\bullet}$) (Densiov E.T., 2005).



NO_3^- est un ERO qui provoque beaucoup de dommages aux constituants cellulaires (Bonfont-Rousselot et al, 2003).

L'acide hypochlorique ($HOCl$)

Il est obtenu à partir de peroxyde d'hydrogène. Il traverse facilement les membranes biologiques et peut endommager les constituants protéiques de la cellule en raison de son fort pouvoir oxydant (Bonfont-Rousselot et al, 2003).



Un résumé des principales ERO et de leur formation est présenté dans la figure ci-dessous.

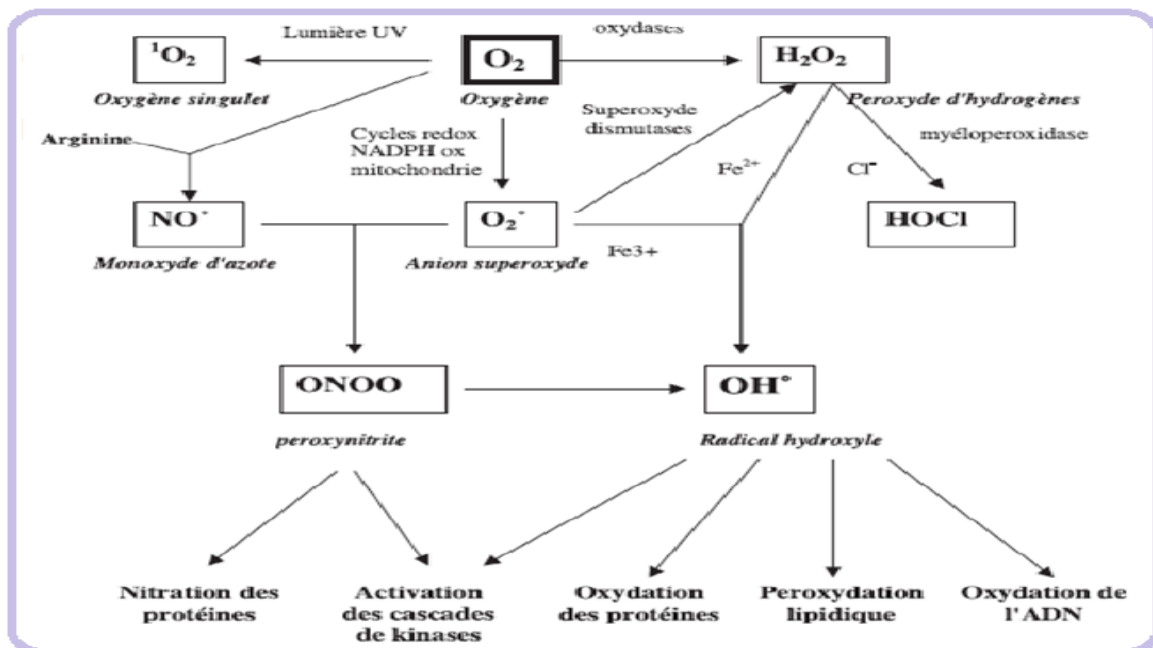


Figure 8 : Mécanismes de production des principales espèces réactives de l'oxygène (ERO) impliqués en biologie (Favier et al, 2003) .

IV.4 Conséquence du stress oxydant

Un déséquilibre de la balance antioxydante en faveur de la production des ERO constitue le stress oxydant (Barouki, 2006; Valko et al., 2007). En fait, Le stress oxydant dû aux radicaux libres, entraîne des lésions tissulaires essentiellement par l'oxydation des protéines, de l'ADN ou des lipides (Curtin et al., 2002; Ferreira et al., 2019; Laight et al., 2000).

IV.4.1 Peroxydation lipidique

Les acides gras polyinsaturés (AGPI) sont les cibles privilégiées des ERO radicalaires en raison de leurs hydrogènes bis-allyliques facilement oxydables. Plus l'acide gras est insaturé et plus il est susceptible d'être peroxydé, c'est-à-dire dégradé par un processus oxydant non enzymatique. L'autoxydation des AGPI et monoinsaturés est un processus radicalaire de réaction en chaîne qui se décompose en trois étapes : l'initiation, la propagation et la terminaison (Halliwell, 1989). La phase d'initiation débute par une création d'un radical d'acide gras (R^{\cdot}) à partir d'un acide gras (RH) par soustraction d'un atome d'hydrogène provenant d'un groupement méthylène (-CH₂-) bis allylique. Cette déshydrogénation peut être provoquée par un initiateur radicalaire tel que le $\cdot OH$ et le HOO^{\cdot} . Le radical lipidique R^{\cdot} subit ensuite un réarrangement moléculaire pour donner un radical avec une structure de diène conjugué, plus stable. Ensuite, la propagation est réalisée par la fixation d'une molécule d' O_2 et formation un radical peroxyde (ROO^{\cdot}) (Esterbauer et al, 1992). Ce radical est suffisamment réactif pour arracher à nouveau, un

hydrogène à un acide gras polyinsaturé voisin, propageant ainsi la réaction. Il est généralement admis que chaque radical $R\cdot$ peut être à l'origine d'une centaine de molécules d'hydroperoxyde avant que survienne la phase de terminaison. L'hydroperoxyde lipidique (ROOH) formé peut être oxydé en présence de métaux de transition divalents de Fe^{2+} ou Cu^{2+} et entraîner la formation d'alcalins et d'aldéhydes toxiques dont le malonyldialdéhyde (MDA) ou le 4-hydroxynonanal (4-HNE). La réaction en chaîne peut être interrompue (phase de terminaison) par l'association de deux radicaux libres et la formation d'un composé stable ou le plus souvent par la réaction du radical avec une molécule antioxydante (Favier, 2003) (**Figure 9**).

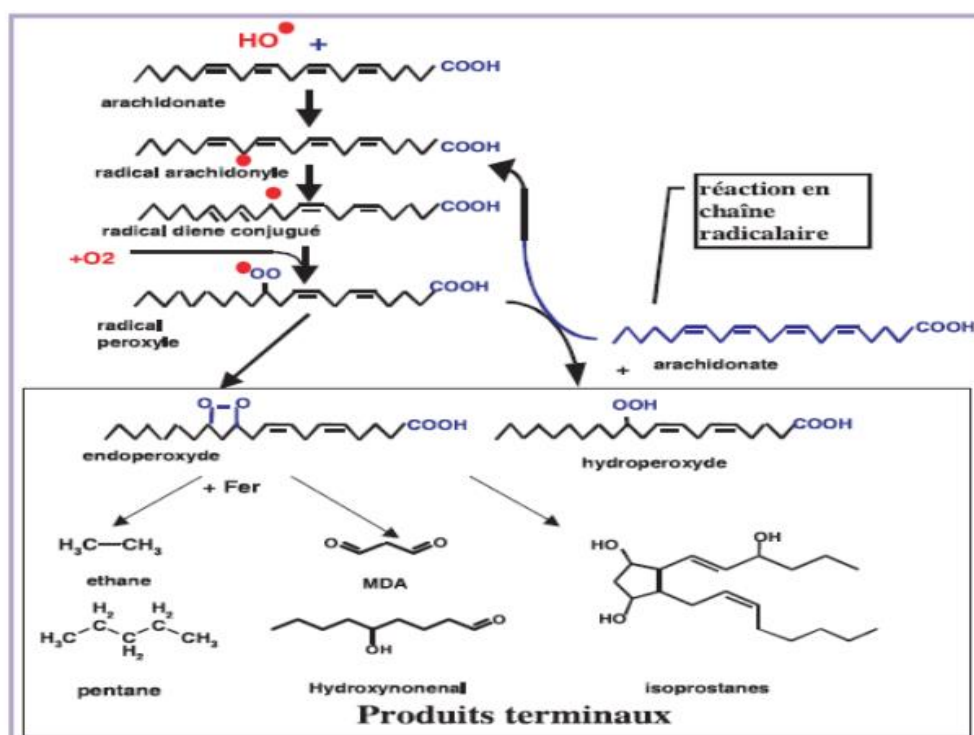


Figure 9: Réaction de la peroxydation lipidique (Favier, 2003).

IV.4.2 Oxydation des protéines

Les protéines sont une cible importante des ERO et peuvent subir des modifications oxydatives. L'oxydation des protéines, surtout des acides aminés aromatiques et des acides aminés soufrés, provoquent des modifications structurales des protéines, facilitant de ce fait leur agrégation ou leur dégradation par les protéases (Squier, 2001). Ces modifications entraînent la formation de protéines carbonylées « PC » par l'introduction d'un groupement carbonyle, et elles s'accumulent avec l'âge dans de nombreux tissus et altèrent la fonction des organes (Levine, 2002)(**figure 10**). En effet, les métaux de transition peuvent influencer fréquemment sur les réactions d'oxydation (Bloomer, 2004). De plus, les réactions d'oxydations peuvent être classées en deux catégories : celles qui détruisent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne

peptidique, et les autres qui induisent des modifications peptidiques par l'addition de produits issus de la peroxydation lipidique comme le 4-HNE (Levine, 2002).

L'oxydation des acides aminés sulfurés entraîne une perte des groupements thiols (**figure 11**) (Davis et al., 2001). Ces altérations concernent particulièrement les enzymes antioxydantes qui contiennent très souvent des groupements thiols (-SH). En effet, l'oxydation de la cystéine est réversible mais peut également perturber les fonctions biologiques du glutathion (GSH) ou des propriétés fonctionnelles des protéines membranaires (récepteurs ou enzymes) (Jacob et al., 2006; J. L. Martin et al., 2006).

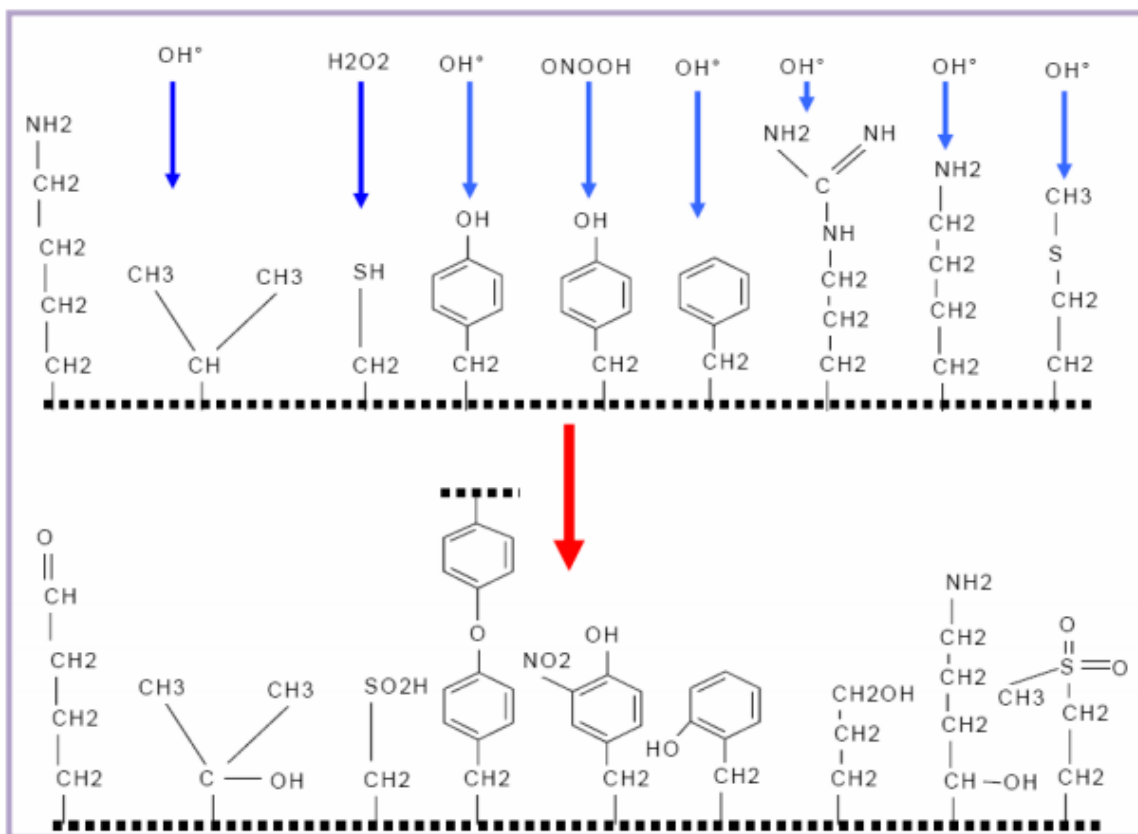


Figure 10: Les modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire (Favier, 2003).

IV.4.3 Oxydation de l'ADN

La transmission des caractères héréditaires d'une génération à l'autre est basée sur l'acide désoxyribonucléique (ADN). Il existe deux types d'ADN au sein d'une cellule procaryotique : l'ADN nucléaire et l'ADN mitochondrial. Ce dernier est une cible cellulaire importante pour les ERO en raison de son potentiel de réparation plus faible que celui de l'ADN nucléaire et la chaîne respiratoire mitochondriale (l'une des principales sources des ERO cellulaires). Ainsi, le taux de bases oxydées serait plus élevé dans l'ADN mitochondrial que dans l'ADN nucléaire (Stevnsner et al., 2002). Les changements induits par les processus oxydatifs dans l'ADN se

répartissent en quatre catégories : les coupures simples et doubles brins, les bases modifiées comme le 8- hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OHdG) (la guanine qui peut être transformée en 8-OHdG ou encore la thymine en thymine glycol) qui est un marqueur des dommages oxydatifs de l'ADN, les pontages ADN-ADN et ADN-protéines ou ADN-avec des dérivés d'oxydation lipidique et les sites abasiques (Favier, 2003). La figure ci-dessous montre ces différents types de dommages (**Figure 11**)

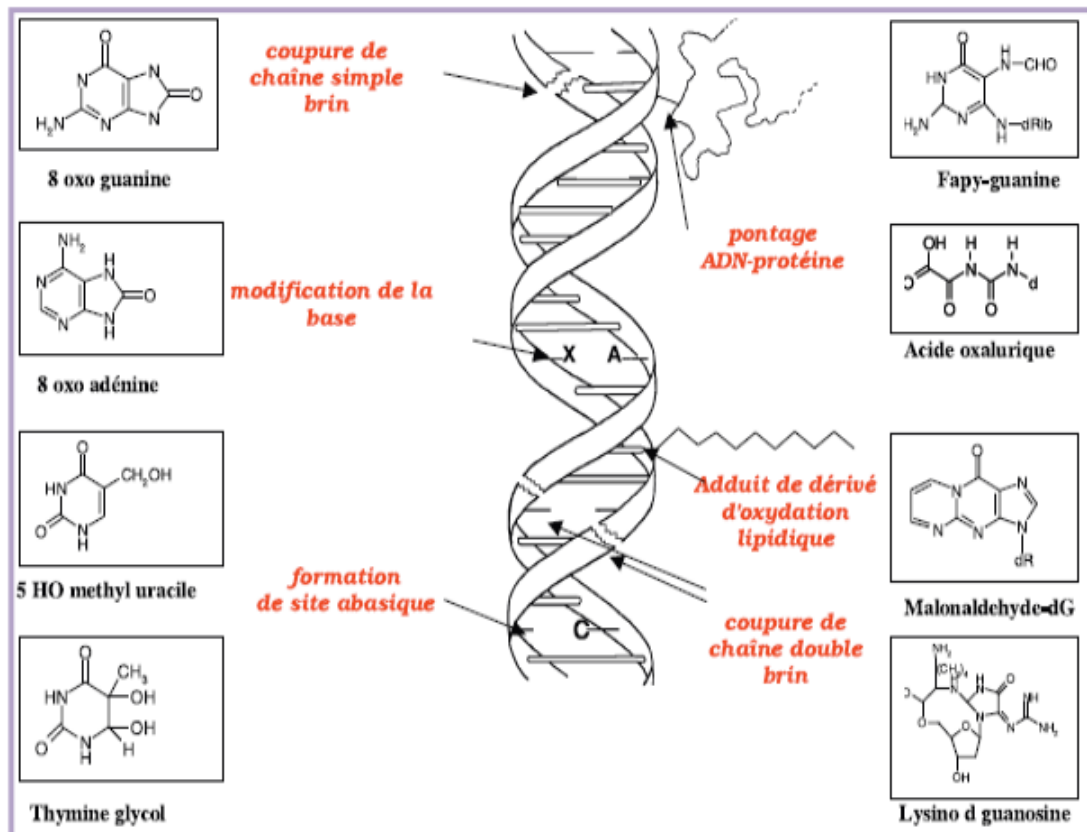


Figure 11: les différents types de dommages de l'ADN (Favier, 2003).

IV.5 Le stress oxydant et les pathologies

Dans plusieurs maladies graves, notamment celles liées aux intoxications chimiques et médicamenteuses et d'expositions à des rayonnements, d'un syndrome d'hyperoxygénation, de phénomènes inflammatoires, le stress oxydant est le facteur déclenchant originel (**figure 12**). En effet, Le stress oxydant est impliqué dans le développement des maladies comme : le cancer, les maladies neuro-dégénératives et le vieillissement accéléré. En addition, des études récentes montrent que le stress oxydatif est un facteur important de maladies respiratoires (Olabisi et al., 2020). De plus, une étude a démontré une augmentation du stress oxydatif cérébral chez les patients atteints de la maladie de Parkinson ou de sclérose latérale amyotrophique avec des changements métaboliques mitochondriaux, tels qu'une utilisation accrue du glucose avec la

fermentation lactique, une suppression du métabolisme des acides gras , une activité de la chaîne respiratoire altérée (Ikawa et al, 2021).

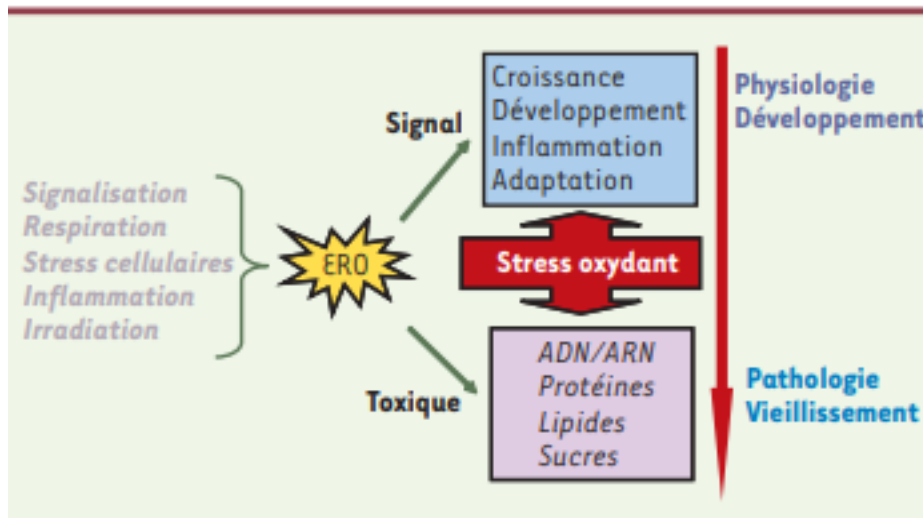


Figure 12: les effets des ERO sur le matériel génétique (Barouki, 2006)

IV.6 Les antioxydants

IV.6.1 Définition des antioxydants

Le terme d'antioxydant désigne toute substance qui réduit les dommages dus à l'oxygène, tels que ceux causés par les radicaux libres (Heo et al., 2007; Priymenko, 2007). Les antioxydants peuvent éventuellement réduire les risques de cancer, d'artériosclérose, des maladies cardiaques et de plusieurs autres maladies métabolique (Bandyopadhyay et al., 2007). Les cellules peuvent utiliser de nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leur niveau d'ERO. Elles sont dotées de divers systèmes antioxydants répartis dans tous les compartiments de l'organisme, qu'ils soient membranaires, intracellulaires ou extracellulaires (Powers SK, 2000).

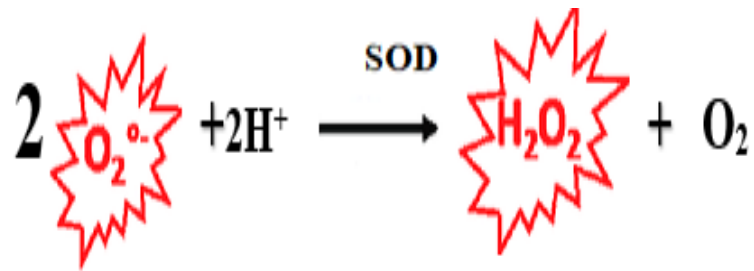
Dans l'organisme, il existe deux systèmes de défense antioxydant : les systèmes enzymatiques et les systèmes non enzymatiques.

IV.7 Le système antioxydant enzymatique

Les cellules sont protégées contre le stress oxydatif par un réseau d'enzymes antioxydantes en interaction (Lobo et al., 2010). Les trois principales enzymes antioxydantes sont les superoxydes dismutases (SOD), les glutathions peroxydases (GPx) et la catalase (CAT).

IV.7.1 Les superoxydes dismutases (SOD)

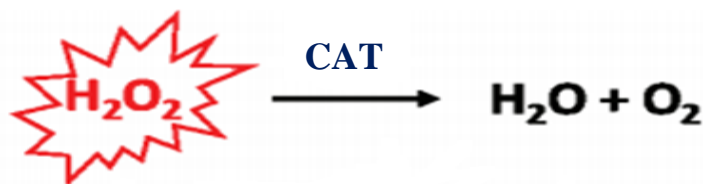
La superoxyde dismutase (SOD) est une enzyme catalysant la dismutation des ions superoxydes (les premières espèces toxiques) en peroxydes d'hydrogènes et oxygènes moléculaires selon la réaction suivante :



La SOD est une métalloenzyme qui selon sa localisation s'associe à différents métaux. Il existe trois grandes familles de superoxyde dismutase, en fonction du cofacteur métallique : Cu/Zn (qui lie à la fois le cuivre et le zinc), les types Fe et Mn (qui lie le fer ou le manganèse), et enfin le type Ni qui lie le nickel (NiSOD est également présente dans les bactéries) (Jochen Wuerges et al, 2004). Les isozymes SOD ont été localisées dans différents compartiments cellulaires. La Mn-SOD est présente dans les mitochondries et les peroxysomes. La Fe-SOD a été trouvée principalement dans les chloroplastes mais a également été détectée dans les peroxysomes, et la CuZn-SOD a été localisée dans le cytosol, les chloroplastes, les peroxysomes et l'apoplaste (Lobo et al., 2010).

IV.7.2 La catalase (CAT)

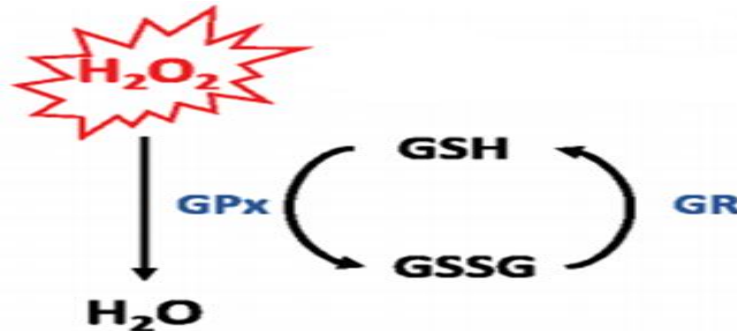
La catalase est une enzyme commune que l'on trouve presque dans tous les organismes vivants qui sont exposés à l'oxygène (Lobo et al., 2010). Elle catalyse la transformation du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire pour prévenir la formation de radicaux hydroxyles (Allothman et al., 2021).



Le peroxyde d'hydrogène est un sous-produit toxique de nombreux processus métaboliques normaux : pour prévenir les dommages, il faut que cette substance soit rapidement transformée en d'autres substances moins toxiques (Lobo et al., 2010).

IV.7.3 Les glutathions peroxydases (GPX) et réductases (GR)

Le système du glutathion comprend le glutathion, le glutathion réductase, glutathion peroxydases et glutathion S-transférases. Ce système est présent chez les animaux, les plantes et les microorganismes (Lobo et al., 2010). La GPX est présente dans le plasma sanguin, mais aussi les globules rouges (cytosolique et membranaire), est une enzyme contenant quatre cofacteurs sélénium qui catalysent la réduction par le glutathion réduit (GSH) du peroxyde d'hydrogène en eau et de divers hydroperoxydes lipidiques produits (ROOH) en alcools et des espèces radicalaires en espèces non radicalaire (Baudin, 2020; Lobo et al., 2010).



L'action des GPx dépend de la biodisponibilité en GSH, glutathion réductase (GR) et NADPH. La GR catalyse la réduction du glutathion oxydé GSSG en glutathion réduit GSH à l'aide du cofacteur NADPH (provient de la voie des pentoses phosphates) (Baudin, 2020).

IV.8 Antioxydants non enzymatiques

La défense antioxydante est composée d'antioxydants endogènes, qui sont synthétisés par le corps, et d'antioxydants exogènes, obtenue à partir de l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydants non enzymatiques nous retrouvons par exemple ; vitamine C, vitamine E, caroténoïdes, l'acide urique et glutathion réduit.

IV.8.1 Le glutathion réduit (GSH)

Le glutathion est un peptide contenant de la cystéine que l'on trouve dans la plupart des formes de vie aérobie, Il est détoxifiant au niveau hépatique.(Ursini & Maiorino, 2020). Le GSH est constamment indispensable à la vie, car la réduction au silence de la γ -Glu-Cys ligase (GCL), l'enzyme limitant la vitesse de synthèse de la GSH, est mortelle (Ursini & Maiorino, 2020). La régénération du GSH à partir du GSSG se fait principalement grâce à l'intervention de la glutathion réductase, et elle consomme une molécule de NADPH (Baudin, 2020).Le GSH intervient également dans le cycle de régénération de 2 vitamines antioxydantes : la vitamine E et la vitamine C (Powers & Jackson, 2008).

IV.8.2 L'acide urique

L'acide urique comme produit final du métabolisme des purines (Baillie et al., 2007). Il représente environ la moitié de la capacité antioxydante du plasma (Jaeschke et al., 2002), et il agit comme un donneur d'électrons capable ainsi de stabiliser les radicaux hydroxyle et peroxyde et l'oxygène singulet (Powers & Jackson, 2008). En fait, l'acide urique pourrait être régénéré par la vitamine C (Waring et al., 2003).

IV.8.3 La vitamine C

La vitamine C (acide ascorbique) est l'un des principaux antioxydants hydrosolubles présents dans le plasma et les fluides extra-cellulaires (compartiments hydrophiles) (Vertuani et al., 2005). Son action est directe et indirecte, elle agit directement sur les ERO (superoxydes, hydroxyle, oxygène singulet, radicaux lipidiques) et indirectement par son action de régénération de la vitamine E et du GSH (Duarte & Jones, 2007; Lobo et al., 2010). La vitamine C est principalement antioxydante, mais en doses trop élevées et dans le processus de défense immunitaire, elle peut exercer une action prooxydante au travers de son habilité à réduire l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}) qui est un puissant catalyseur de plusieurs réaction redox comme la réaction de Fenton/Haber-Weiss (Duarte & Jones, 2007; Sayre et al., 2005)

IV.8.4 Vitamine E

La vitamine E est un terme générique pour tous les tocophérols et les tocotriénols, desquels existent 8 dérivatifs et dont l'alfa-tocophérol est la forme la plus active de la classe des tocophérols. L' α -tocophérol, est le principal antioxydant liposoluble dans le plasma et les érythrocytes. Situé dans les lipoprotéines et les membranes, il est capable de piéger l'oxygène singulet et de réagir avec le radical hydroxyle et former le radical tocophéryle (Xiaoyuan Wang & Peter J. Quinn, 1999;Lobo et al., 2010). La vitamine E joue donc un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant. Par la suite la vitamine E oxydée pourra être reconvertie principalement par la vitamine C, mais également par d'autres composés comme le GSH et la vitamine A (Xiaoyuan Wang et al, 1999).

IV.8.5 Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont les antioxydants liposolubles et qui sont une source importante de la vitamine A (Rao & Rao, 2007). En fait, Les caroténoïdes dont la vitamine A, sont d'excellents piégeurs d'espèces radicalaires grâce à leur système conjugué de doubles liaisons. Ils sont responsables de la couleur jaune, orange et rouge des fruits et des légumes (Rao & Rao, 2007),

et ils sont des colorants importants dans les oiseaux, les insectes, les poissons et les crustacés (Stahl & Sies, 2005). Les caroténoïdes sont des éboueurs éminents de l'oxygène singulet et des radicaux peroxytes. Mais le caroténoïde le plus connu et étudié est le β -carotène, qui est un puissant antioxydant capable d'étancher rapidement l'oxygène singulet (Fusco et al., 2007).

Chapitre II
Matériels et Méthodes

V. Animaux, traitement et modalités d'exposition

Des souris suisses sont obtenues auprès de l'élevage de l'université Sultane Moulay Slimane, à la Faculté des Sciences et Techniques de Beni Mellal au Maroc. Les animaux sont hébergés dans des cages en plexiglas standard (30 cm×15 cm×12 cm), 4 à 5 animaux par cage avec un accès libre à la nourriture et à l'eau selon un cycle de 12 h lumière /12 h obscurité. Deux souris femelles et une souris mâle sont choisies au hasard, logés dans une cage et exposées à de l'eau contenant du Glyphosate (groupes traités) ou de l'eau douce sans traitement (groupe témoin). Les souris mâles sont retirées de leurs cages après la vérification du bouchon vaginal (24h après l'accouplement). Les souris femelles sont ensuite isolées et exposées au Glyphosate dissout dans l'eau potable ad libitum, durant toute la période de gestation. Après la mise bas, les souriceaux sont laissés avec leurs mères jusqu'à l'âge de 21 jours. Les souriceaux des groupes traités sont alimentés en Glyphosate par l'allaitement maternel, après le sevrage, la progéniture est séparée par sexe et logée au hasard. Les groupes traités ont été toujours exposés à de l'eau contenant du Glyphosate et le groupe témoin à de l'eau douce jusqu'à l'âge adulte.

La durée de traitement et les différentes manipulations réalisées au cours de cette étude sont résumées dans le graphique ci-dessous (**figure 13**).

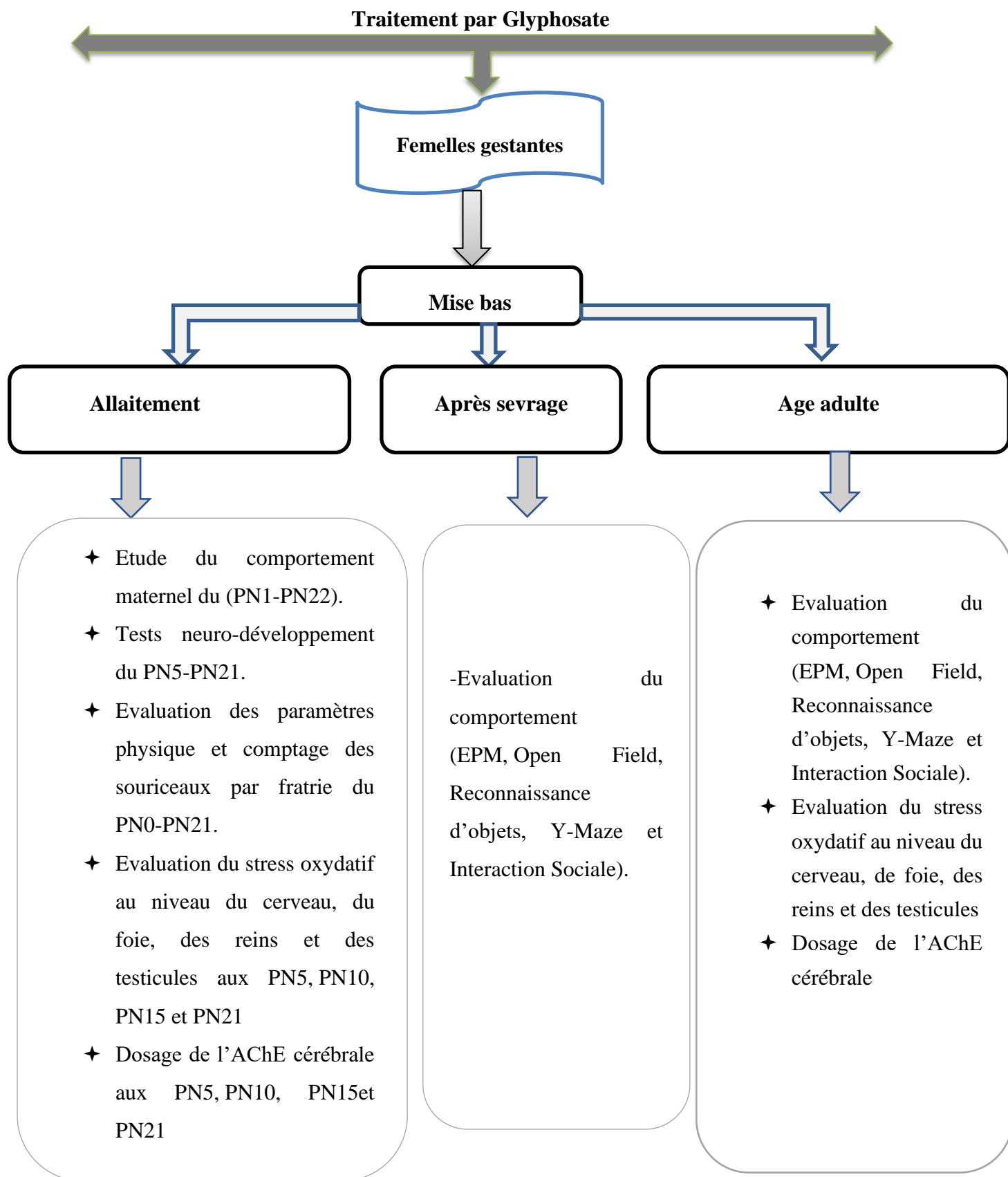


Figure 13: Durée de traitement avec les différentes manipulations réalisées au cours de cette étude.

VI. Etude du comportement

VI.1 Evaluation du comportement maternel

Le comportement maternel a été observé quotidiennement pendant 50 min dans la cage de chaque femelle avec sa portée entre PN01 et PN22.

Les observations ont été faites au début du jour : entre 8 :00 à 9 :00 heure (Šlamberová et al., 2001). Au cours de chaque séance de 50 minutes, chaque femelle et sa portée ont été observées 10 fois pendant 5 s à des intervalles de 5 minutes. Onze types d'activités présentées par les femelles et les trois postures d'allaitement ont été enregistrés pendant chaque session. Ainsi, chaque femelle et sa portée ont été observées 220 fois (22 jours *10 Observations/session). Lors de chaque observation, le score « 1 » a été attribué si un comportement se produit et un score de « 0 » dans le cas contraire.

En ce qui concerne l'allaitement, on note deux types :

- L'allaitement actif : se réalise quand la femelle est cambrée sur ses souriceaux avec les jambes écartées.
- L'allaitement passif : se produit lorsque la femelle est au-dessus de sa litière, néanmoins le dos de la femelle n'est pas cambré ainsi qu'il n'y a pas d'extension évidente de ses jambes ou lorsque la mère couchée sur le côté ou sur le dos avec un ou plusieurs petits.

Les autres activités de femelles ont été enregistrées lors de chaque session et se présentent comme suit :

1. Femelle en contact avec l'un de ses souriceaux.	2. Femelle dans ou hors du nid.
3. Femelle portant des souriceaux.	4. Femelle toilettant l'un de ses souriceaux.
5. Femelle manipulant des copeaux de nid.	6. Femelle reposant les yeux fermés.
7. Femelle mangeant. 8. Femelle buvant.	9. Auto-toilettage de la femelle.
10. L'exploration (rearing).	11. Le renfilage (sniffing) de la femelle avec la tête levée.

VI.2 Test de récupération des souriceaux (Retrieval Test)

Le test de récupération a été réalisé quotidiennement entre 9 :00 et 10 :00 heure. Chaque mère et chaque portée ont été testées entre PND 1 et PND12 (12fois) (Šlamberová et al., 2001).

Tous les souriceaux ont été retirés de leurs cages de maternité et placés dans une autre cage pendant 5 min. après 5 min, tous les souriceaux ont été remis à leur mère dans la cage de maternité en les répartissant autour de la cage. Le comportement de leur mère a été observé pendant 10 min et les paramètres suivants ont été relevés :

- a) Le temps nécessaire pour toucher le premier souriceau.
 - b) Le temps nécessaire pour ramener le premier souriceau dans le nid
 - c) Le temps nécessaire pour ramener tous les petits au nid.
- d) Le comportement inhabituel, tel que :
- retirer un souriceau précédemment ramené
 - prendre soin des souriceaux autour de la cage avant de les placer dans le nid
 - perturber considérablement les copeaux du nid

Au cours de chaque observation, le score « 1 » a été attribué si un comportement se produit et un score « 0 » dans le cas contraire (**Figure 14**).

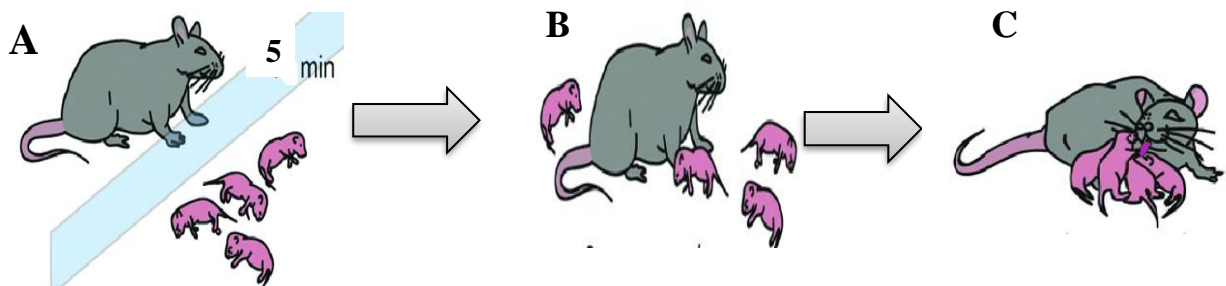


Figure 14: Images explicatives du test de récupération des souriceaux : A) séparer la femelle et ses souriceaux, B) Remettre les souriceaux dans la cage de maternité, C) Ramener tous les souriceaux au nid.

VI.3 Les tests neurodéveloppements réalisés sur les souriceaux

Le comportement chez les souriceaux est un indicateur efficace de l'adaptation du nouveau-né à la vie extra-utérine pendant les premiers stades du développement.

Des réflexes retardés pourraient être un résultat de troubles neurologiques.

Pendant la période de sevrage, tous les souriceaux sont soumis aux tests comportementaux suivants (les tests et les âges sont rapportés dans **le tableau II**) .

Tableau II : Calendrier des tests neurodéveloppements chez les souriceaux

Les tests neurodéveloppements	Age du test (jours postnataux)
Surface righting reflex	05-07
Cliff avoidance	06
Negative geotaxis	07-09-13
Jumping down choice cages	15-17
Swimming	10-12-21

VI.3.1 Test de retournement (*righting reflex*)

Le test de retournement est le premier effectué chez le souriceau. Les structures nerveuses impliquées dans ce test sont des structures labyrinthiques, qui jouent un rôle très important dans le déclenchement du réflexe de retournement. En effet le centre d'organisation de reflexe dans les premiers jours est les régions bulbaires, ensuite il devient plus mésencéphalique (Bignall, 1974; Windle & Fish, 1932).

Procédure : Ce test est réalisé à PN 5 et à PN7. Le souriceau est initialement déposé sur la table sur le dos. Le temps écoulé pour se retourner et avoir les 4 pattes au contact avec la surface a été enregistré. La durée maximale du test est 30 secondes (**Figure 15**).

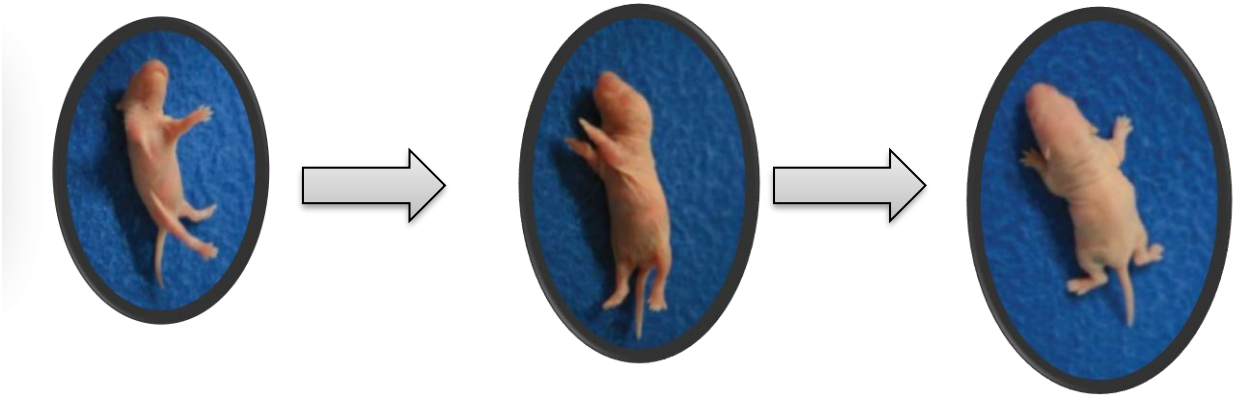


Figure 15: Photos explicatives du test « surface righting reflex ».

VI.3.2 Cliff Avoidance

Le but de ce test est d'évaluer la capacité de l'animal à éviter le vide. Il met en jeu la force musculaire de l'animal, et sa coordination des membres.

Procédure : Ce test est réalisé à PN6. Le souriceau a été placé sur un bord d'une table avec les pattes antérieures et le nez sur le bord (**Figure 16**). Le temps mis pour se détourner avec un angle de 180° du bord de la table et éviter la chute a été enregistré. La durée maximale de chaque essai est de 2 minutes.

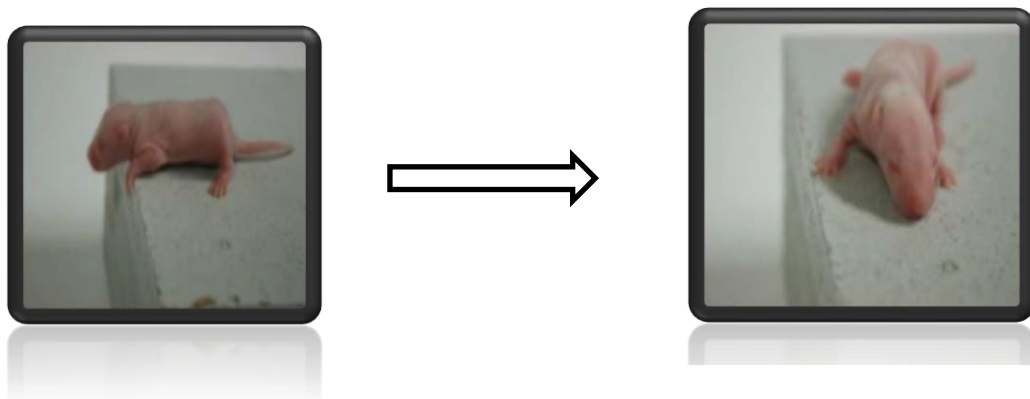


Figure 16: dispositif pour le déroulement du test « Cliff Avoidance ».

VI.3.3 Test de réaction anti-gravitaire (negative geotaxis)

Ce test permet de renseigner sur les structures nerveuses à savoir la maturation du système vestibulaire. De même, il permet d'évaluer le développement de la réaction motrice (Altman & Sudarshan, 1975; Hooker, 1952).

Le dispositif du test de réaction anti-gravitaire est composé d'une planche en bois (45 x 40 cm) recouverte d'une étoffe colorée (feutrine), et inclinée de 45° par rapport à l'horizontale.

Procédure : les souriceaux ont été placés sur une surface inclinée avec la tête vers le bas, le temps nécessaire pour tourner à 90° puis à 180° a été enregistré. La durée maximale de ce test est de 2 minutes (**Figure 17**).

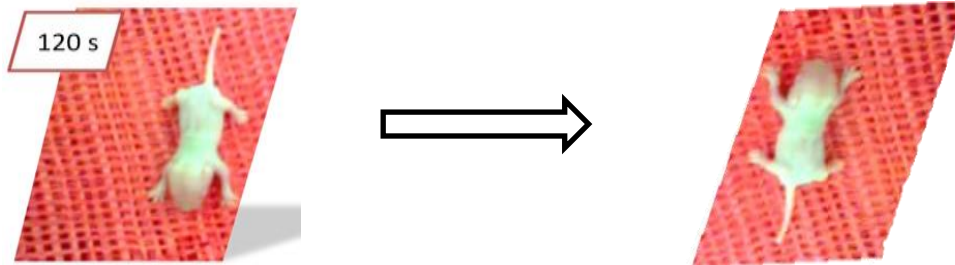


Figure 17: Dispositif explicatif du test « Négative geotaxis »

VI.3.4 Saut vers le bas avec le test de choix (« Jumping down choice cage »)

Ce test renseigne sur le développement de l'orientation, la coordination, ainsi que les fonctions sensori-motrices. Le dispositif du test de choix est composé d'une plateforme surélevée de 25 cm placés au-dessus de deux cages ; l'une est vide et l'autre contient la fratrie. Le temps pour descendre dans l'une des cages et le choix a été enregistré.

Procédure : Ce test est réalisé à PN15 et à PN17. Le souriceau est placé sur une plate-forme surélevée, Le test est terminé lorsque le souriceau saute soit vers la fratrie soit vers le vide. La durée maximale de ce test est de 2 minutes (**Figure 18**).

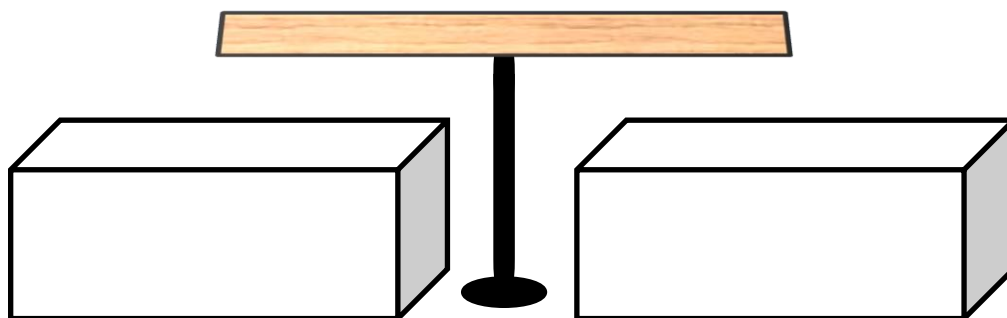


Figure 18: Dispositif du test Saut vers le bas avec le test de choix (Jumping down choice cage).

VI.3.5 Le développement de la natation (« Swimming development »).

Ce test permet d'évaluer la capacité de nage et de mesurer le développement de la coordination neuro-motrice (Kihara et al., 2001). Le souriceau est placé individuellement dans un réservoir d'eau à 28 °C pendant 10 s. l'utilisation des membres, La direction, et l'angle ont été observés. Le Dispositif du développement de la natation est constitué d'un réservoir rempli de l'eau à une température de 28 °C, la hauteur de l'eau dans le réservoir est de 12 cm.

Procédure : Ce test est réalisé à PN10, PN12 et PN21. Pour la direction : lorsque le souriceau coule le score est de 0 points, il est de 1 point lorsqu'il flotte, 2 points s'il tourne en faisant un cercle, et le score est de 3 lorsque le souriceau nage tout droit ou presque tout droit. Pour l'angle de la nage ; le score est de 0 si la tête reste sous l'eau, il est de 1 point si le nez est à la surface de l'eau et de 2 si le nez et le sommet de tête sont au-dessus de la surface de l'eau, mais les oreilles sont toujours sous l'eau. Le score est de 3 si la moitié des oreilles est au-dessus de la surface et il est de 4 si les deux oreilles sont complètement hors de l'eau. Concernant l'utilisation des membres, le score est de 0 lorsque l'animal n'utilise pas ses membres, il est de 1 lorsque le raton patauge avec les membres postérieurs et antérieures et de 2 lorsqu'il nage uniquement avec les membres antérieurs, les membres postérieurs restent fixes (**Figure 19**).



Figure 19: Dispositif du test du développement de la nage « swimming development ».

VII. Evaluation du comportement individuel de 23 jours et à l'âge adulte

VII.1.1 Le labyrinthe en croix surélevée ou Elevated Plus Maze (EPM).

L'EPM est un test qui permet de détecter un comportement de type anxieux. Ce test est validé par Pellow et al. en 1985 (Pellow et al., 1985; Salum et al., 2003).

Le labyrinthe en croix surélevée est composé de quatre bras surélevés à 70 cm du sol (**Figure 20**). Deux bras (50 x 10 x 50 cm) entourées de parois verticales opaques, appelées bras fermés, font face à deux bras dépourvus de parois, dits bras ouverts. L'intersection des bras (10 x 10 cm) est appelée zone centrale. Les bras ouverts sont délimités par un rebord de 2 mm pour éviter que l'animal ne tombe.

L'anxiété chez les souris est liée directement au temps passé dans les bras fermés par rapport au temps passé dans les bras ouverts. Plus l'animal passe assez du temps dans bras fermé, et plus il est anxieux. La zone centrale constitue une zone de décision, et est considérée, avec les bras fermés, comme un espace protégé. L'indice d'anxiété a été calculé selon Cohen (Cohen et al., 2013) et Contreras (Contreras et al., 2014) comme suit :

$$\text{Indice d'anxiété (IA)} = 1 - \left[\frac{[\text{Temps de bras ouvert} / \text{Durée du test}] + [\text{Entrées des bras Ouverts} / \text{Nombre total d'entrées}]}{2} \right]$$

Procédure : Au début du test, la souris est placée dans la zone centrale, la tête orientée vers un bras ouvert. Il est alors laissé libre d'explorer son environnement pendant 5 minutes.

Variables mesurées : Nombre des entrées dans les bras ouverts, Nombre des entrées dans les bras fermés, temps passé dans les bras fermés, temps passé dans les bras ouverts et l'indice d'anxiété.

Une entrée est comptée chaque fois que l'animal place les quatre pattes sur chaque bras. Le labyrinthe a été nettoyé avec une solution d'éthanol (10%, v/v) et séché avant de mettre l'animal dans le dispositif.

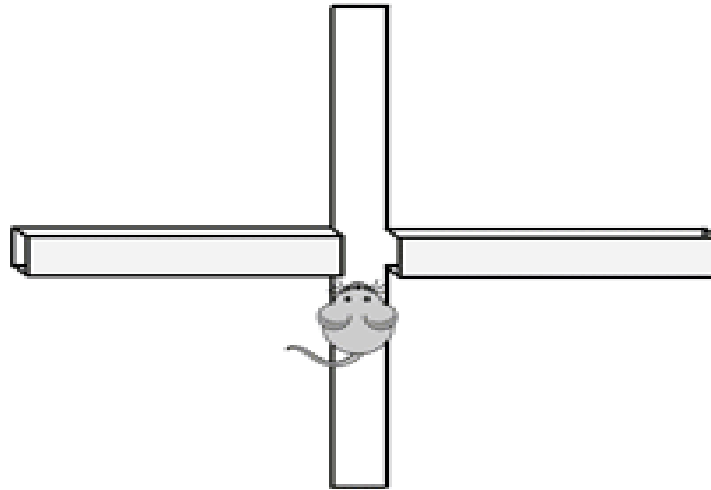


Figure 20 : Dispositif expérimental du test de labyrinthe surélevé

VII.1.2 L'Open Field (Champs ouvert)

L'Open Field est un test psychophysiologique qui fut la mesure populaire d'émotivité chez les animaux. Son rôle principal est la mesure de l'anxiété. Mais il peut être utilisé pour l'évaluation d'autres paramètres. Il est largement validé dans la mesure des troubles de la motricité chez les rongeurs (Carola et al., 2002).

Le dispositif est composé d'un carré (diamètre : 50 cm) délimitée par une paroi verticale de 50 cm de hauteur. Le plancher est divisé en 25 cases réparties dans deux zones : une zone centrale et une zone périphérique (**Figure 21**).

Procédure : L'animal est placé dans le dispositif (au centre) pendant 5 minutes, dans un environnement calme sous la lumière d'une lampe. Le comportement de l'animal est enregistré avec une caméra.

Variables mesurées : le temps passé dans chaque zone, compte le nombre de cases périphériques, centrales et total parcourues ainsi que le nombre de redressements.

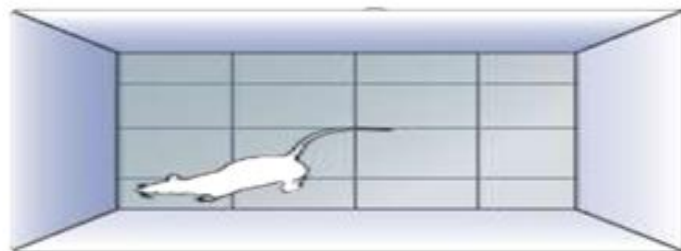


Figure 21: Dispositif expérimental du test champ ouvert (« Open Field »).

VII.1.3 Le labyrinthe en Y (Y-Maze)

Y-maze est un test utilisé en général pour l'évaluation de la mémoire spatiale. Il renseigne aussi sur l'état de la mémoire à court terme, l'activité locomotrice et le comportement stéréotypé (Kokkinidis et al., 1976).

Ce dispositif est composé de trois bras identiques espacés d'une manière égale (120°, 41 cm de longueur et 15 cm de largeur) (**Figure 22**).

Déroulement du test : L'animal est placé dans un des bras, la tête vers le mur du bras puis laisser 5 minutes. Son activité est enregistrée avec une caméra. Les bras sont nommés A, B et C et la séquence des entrées dans les différents bras est marquée manuellement. Le paramètre calculé est le pourcentage d'alternance ; une alternance est l'entrée consécutive de l'animal dans tous les bras.

Variables mesurées : Pourcentage d'alternance (PA)

$$PA = (NB \text{ Alt} * 100) / (Nb \text{ Visites} - 2). \text{ (Chen et al., 2016)}$$

Exemple : ABCBCAABCC PA = (3*100) / (10-2) = 37.5 %

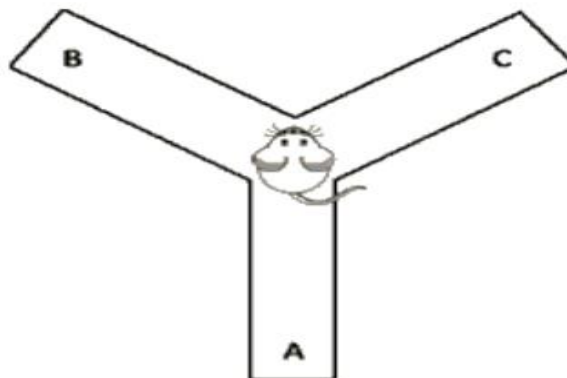


Figure 22: Dispositif expérimental du test labyrinthe en Y avec la formule adaptée pour calculer le pourcentage d'alternance.

VII.1.4 Reconnaissance d'objet

Le test de reconnaissance d'objet est spécifique pour étudier la mémoire déclarative chez les souris car il préfère naturellement un nouvel objet par rapport à un objet familier. Ceci évalue la capacité de la souris à bien explorer un nouvel objet par rapport à un objet familier dans un endroit connu.

Les animaux témoins passent habituellement assez de temps à reconnaître le nouvel objet, ce qui reflète ainsi l'utilisation de la mémoire et le processus d'apprentissage. L'absence de différence dans l'exploration des objets peut être expliquée comme un déficit de mémoire.

Déroulement du test : au début du test, chaque animal est autorisé à explorer le dispositif librement pendant 5 minutes en l'absence de tout objet. 24 heures plus tard, l'animal doit explorer deux objets identiques (A1 et A2) placés à deux coins adjacents du dispositif et à 10 cm des murs, pendant 5 minutes ; c'est la phase d'acquisition. On ne parle d'exploration que lorsque le nez de la souris est dirigé vers l'objet à moins de 1 cm, alors que le grignotage et le marquage des objets ne sont pas considérés comme exploration.

Variables mesurées : -l'indice de reconnaissance (IR)

$$\text{IR} = \frac{C \cdot 100}{C + A} \text{ Avec :}$$

- C : le temps passé par l'animal avec l'objet C pendant la phase de reconnaissance.

- A : le temps passé par l'animal avec l'objet A pendant la phase de reconnaissance.

-l'indice de discrimination (ID) (Antunes & Biala, 2012)

$$\text{DI} = \frac{(TN - TF)}{(TN + TF)} \text{ Avec :}$$

- TN : Temps à explorer nouvel objet

-TF : Temps à explorer l'objet familier

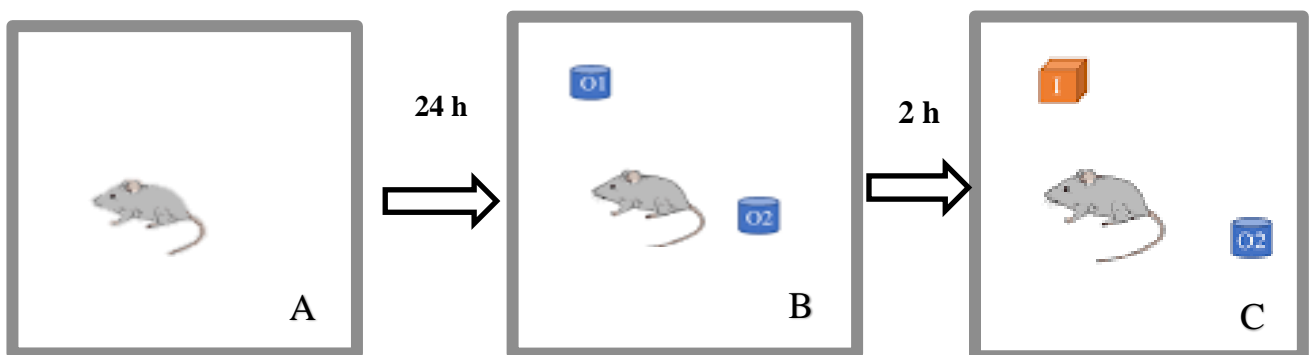


Figure 23: Dispositif expérimental du test « Reconnaissance des objets » (A) : le Dispositif sans objets (phase d'habituation), (B) : le Dispositif avec deux objets similaires Q1 et Q2 (phase acquisition), (C) : le Dispositif avec deux objets différents (Q1 ou Q2) et I.

VII.1.5

Test de l'interaction sociale :

La sociabilité des souris traitées par le Glyphosate et leurs témoins a été étudiée en utilisant le système de test à trois chambres bien développées par Crawley (Crawley, 2004).

Les souris à tester et les souris stimulantes ont été placées dans la salle d'essai 30 min avant le début du test. Des souris même sexe et âge que les souris à testées ont été utilisés comme

souris stimulus. Chaque souris stimulus a été utilisée une fois par jour et la durée du test est de 25 minutes pour chaque souris.

✓ La phase d'adaptation :

Isoler les compartiments droits et à gauche en utilisant les murs en plexiglas de démarcation et placer des tasses métalliques vides de confinement au milieu de la chambre droite et à gauche (un pour chaque chambre) et puis placer la souris à tester au centre de la chambre du milieu pour l'adaptation et laisser pendant 5 min.

✓ Aspect de l'appartenance sociale (Session I) (10min)

Dans un premier temps, il faut placer l'une des souris stimulus (étranger 1) à l'intérieur d'une tasse de confinement métallique qui se trouve dans l'une des chambres latérales. Le placement d'étranger 1 dans le côté droit ou gauche de la chambre est systématiquement changé entre les essais, après les murs sont retirés entre les compartiments, afin de permettre un accès libre pour la souris testée à explorer chacune des trois chambres. Immédiatement, il faut commencer à surveiller et enregistrer les paramètres suivants :

La durée et le nombre des contacts directs (actif) entre la souris testée et la tasse vide ou bien contenant l'étranger 1 pour chaque chambre individuelle. Le contact direct entre la souris testée et la tasse de confinement, ou étirement du corps de la souris dans une zone soumise 3-5 cm autour de la tasse est compté comme un contact actif ainsi le temps passé dans les trois compartiments.

La durée et le nombre d'autres comportements par la souris testée dans chaque compartiment, y compris l'auto-toilettage et les comportements inhabituels.

✓ Nouveauté sociale / préférence : session de l'épreuve (Session de l'épreuve (Session II) (10 min)

Placez une 2^{ème} souris stimulus (étranger 1) à l'intérieur de la 2^{ème} tasse vide de confinement identique dans la chambre de l'autre côté (qui a été vide dans la Session 1) et surveiller les mêmes paramètres décrits précédemment, la différenciation des comportements de la souris testée à la présence de la souris étranger 1 par rapport à la souris étranger 2, (**Figure 24**)

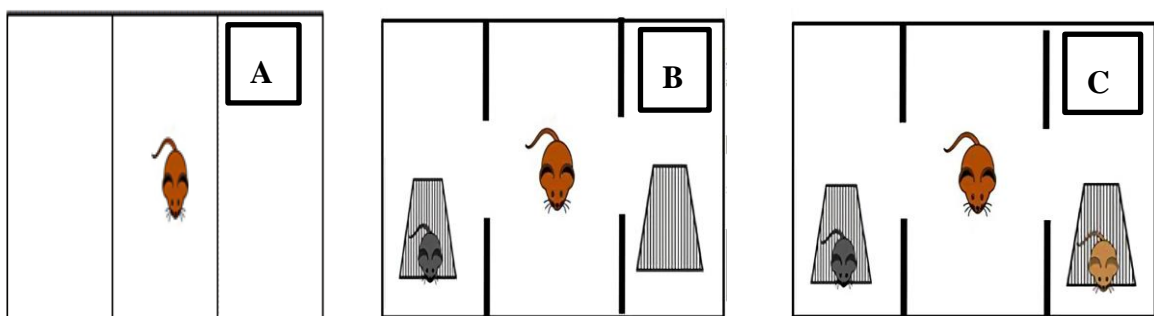


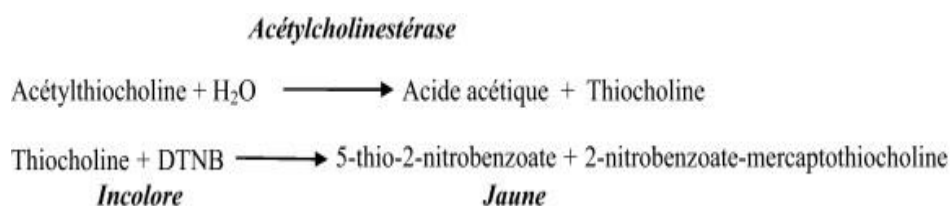
Figure 24: Dispositif explicatif du test Interaction Sociale : A : phase d’habituation, B : appartenance sociale avec une seule souris étrangère 1, C : Nouveauté sociale/ préférence avec deux souris (étrangère 1 et étrangère 2).

VIII. Dosages biochimiques

IX. Dosage de l’acétylcholinestérase

- Principe

La méthode utilisée est Colorimétrique, elle est décrite par Ellman (Ellman et al., 1961), La fraction des tissus contient de l’acétylcholinestérase qui va réagir avec l’acétylthiocholine (ASCh) en libérant l’acétate et la thiocholine (SCh). Ensuite, la thiocholine (SCh) va réagir avec le 5-5’-Dithio-bis (2-nitrobenzoate) (DTNB) en donnant du TNB produit de couleur jaune qui absorbe à 412 nm et dont la concentration est relative à la quantité d’enzymes présente dans le milieu. La réaction peut se schématiser comme suite :



- Mode opératoire

Réactifs	Blanc (µl)	Essai (µl)
Tampon phosphate (PBS) (0.1 M, pH 7.4)	1050	1000
DTNB	50	50
ASCh	50	50
Homogénat	—	50

Les tubes sont fermés puis agitation ; par la suite la lecture de l’absorbance se fait à 412 nm à un intervalle de temps de 25 min (lecture de la DO chaque 3min) contre la solution blanche.

- Calcul de l’activité de l’AChE

L’activité de l’AChE exprimée nanomoles par minute par milligramme de protéines selon la formule suivante :

$$\text{AChE (nmol/min/mg prot)} = (\Delta \text{ DO} / \Delta t \times 1691.18) / P$$

- $\Delta \text{ DO} / \Delta t$: variation de la densité optique par minute ;
- P : Concentration de protéines en mg/ml.

IX.1.1 DOSAGE DES MARQUEURS DU STRESS OXYDANT

IX.1.2 Préparation de l'homogénat

0.4 g de foie, rein, testicule ou du cerveau de souris a été broyé et homogénéisé dans 4 ml de TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4). Ensuite une centrifugation de la suspension cellulaire (9000 tours/min, 4°C, 15 min), par la suite, le surnageant obtenu est aliquoté dans des tubes eppendorfs puis conservés à -20°C en attendant d'effectuer les dosages des paramètres du stress oxydant.

IX.1.3 Dosage de malondialdéhyde (MDA)

Le malondialdéhyde (MDA) est un produit terminal de la dégradation des lipides, sa teneur est en relation étroite avec les dégradations de la membrane cellulaire, permet d'évaluer l'effet d'une pénétration d'une substance étrangère dans l'organisme. Il peut être utilisé comme biomarqueur du stress oxydant. En effet, ce paramètre est un indicateur précoce d'une agression toxique (Funes et al., 2006; Ladhar-Chaabouni et al., 2007).

Principe :

Le MDA est dosé par la méthode colorimétrique à l'aide de l'acide thiobarbiturique (TBA). La réaction au TBA (méthode très sensible) permet de détecter de faibles quantités de peroxydes lipidiques et plus particulièrement le MDA Libre. Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique (TBA), Pour former un pigment (rose). L'intensité du chromogène rose augmente avec la concentration en MDA, ainsi il peut être mesuré par spectrophotomètre d'absorption à 530 nm.

Mode opératoire :

Réactifs	Blanc (ul)	Echantillon (ul)
S ₀ (mg prot/ml)	0	500
TBS	700	200
TCA-BHT	500	500
Vortex et centrifuger à 1000 tr/min pendant 10 min		
Tris-TBA	640	640
Surnageant	800	800
Hcl	160	160
Vortex incubé à 80 °C pendant 10 min lecture de l'absorbance à 530 nm		

Calculer de la concentration de la MDA

La concentration de MDA est exprimée en nanomoles par milligramme de protéines (nmol/mg prot) selon la formule suivante :

$$C = (DO \cdot 10^6) / (\epsilon \cdot \chi \cdot L \cdot Fd)$$

C : Concentration de MDA en nmoles/mg de prot ;

DO : Densité optique lue à 530 nm ;

ϵ : Coefficient d'extinction molaire du MDA, $\epsilon_{MDA} = 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$;

L : Longueur du trajet optique = 1 cm ;

χ : Concentration du surnagent en protéines (mg/ml) ;

Fd : Facteur de dilution, Fd = 0.2083.

IX.1.4 Dosage de l'activité de la Superoxyde Dismutase (SOD)

Le Dosage du superoxydes Dismutase (SOD) est réalisé selon la méthode de Asada (Asada et al., 1974) .

-Mode opératoire :

La procédure expérimentale du dosage de la superoxyde dismutase est comme suit :

- Prélever 0.1 ml de mélange (méthionine et Na₂EDTA).
- Ajouter 0.8922ml de tampon phosphate (50 mmol,PH=7.8).
- Ajouter 0.05 ml du surnageant.
- Ajouter 0.95 ml tampon phosphate.
- Ajouter 0.0852 ml de NBT.
- Ajouter 0.0226 ml de riboflavine.

La réduction du NBT est estimée à une longueur d'onde de 580 nm contre le blanc.

Calcul de la concentration de la SOD

Le pourcentage (Y) contre unité de SOD (quantité des protéines enzymatiques capable d'inhiber 50% de NBT) peut être calculé selon l'équation suivante :

$$Y = (((DO_{\text{étalon}} - DO_{\text{échant}}) / (DO_{\text{étalon}})) * 100) * 20 / C$$

20 : Facteur de dilution de l'échantillon dans le milieu réactionnel.

C : la concentration des protéines dans l'échantillon (mg/ml).

IX.1.5 Dosage de la glutathion peroxydase (GSH-Px)

L'activité enzymatique du glutathion de peroxydase (GSH-Px) est mesurée par la méthode de Floche (Floché & Günzler, 1984) .

-Principe

Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GSHPx selon la réaction suivante :



Mode Opérateur

Pour un dosage spectrophotométrique, on mélange 200µl de l'homogénat (surnageant), 200µl de tampon phosphate (100 mM), 200 µl de GSH (4 mM) et 400 µl de H₂O₂ (5 mM). On les incube ensuite pendant 1 min à 37°C puis on ajoute 500 µl TCA 5%. Le mélange est ensuite centrifugé pendant 5 min à 1500 Tours/minutes. 200 µl du surnageant est récupéré et on lui ajoute 500 µl de tampon phosphate et 500 µl DTNB. Ensuite on note l'absorbance mesurée à 412 nm chaque minute pendant 5 min.

Calcul de la concentration

La détermination de l'activité enzymatique de la GSH-Px se fait à l'aide de la formule suivante :

$$\text{GPX} = Y/X$$

$$Y = (\text{DO}_{\text{Blanc}} - \text{DO}_{\text{Echantillon}}) / 6.22$$

$$X = \text{Quantité de protéine dans 200 µl de l'échantillon (mg/ml)}$$

L'activité de GPX est exprimée en nmol de GSH consommé/min/mg de protéine.

IX.1.6 Dosage de la glutathion-S-transférase (GST s)

La mesure de l'activité des GST, consiste à fournir à l'enzyme un substrat en général du (CDNB) 1-chloro-2,4-dinitrobenzène, qui réagit facilement avec de nombreuses formes de GST et du glutathion. La réaction de conjugaison de ces deux produits entraîne la formation d'une nouvelle molécule qui absorbe la lumière à 340 nm de longueur d'onde, la méthode utilisée dans cette étude pour doser les GSTs est celle de Habig (Habig, 1974).

Principe

Le dosage de l'activité du GST permet de mesurer la cinétique de formation entre un substrat modèle, le chlorodinitrobenzene (C-DNB) et le glutathion, qui absorbe la lumière à 340 nm.

Mode opératoire

Réactifs	Blanc (µl)	Essai (µl)
Tampon phosphate (PBS) (0.1 M, pH 7.4)	850	830
CDNB (0.02 M)	50	50
GSH (0.1 M)	100	100
Homogénat	-	20

La lecture de l'absorbance se fait à 340 nm après 30 s en intervalle de 3 min.

- Calcul de l'activité de la GST

L'activité de la GST est exprimée en nanomoles de C-DNB par minute par milligramme de protéines (nmol C-DNB/min/mg prot) selon la formule suivante :

$$\text{GST (nmol C-DNB/min/mg prot)} = (\Delta \text{ DO échantillon} - \Delta \text{ DO Blanc}) / (\varepsilon \times L \times \text{mg prot})$$

- $\Delta \text{ DO échantillon} - \Delta \text{ DO blanc}$: moyenne des DO des échantillons par minute – moyenne des DO des blancs par minute ;
- ε : Coefficient d'extinction moléculaire du C-DNB, $\varepsilon_{\text{C-DNB}} = 9.6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$;
- L : Trajet optique de la cuve = 1cm.

IX.1.7 Dosage de l'activité de la catalase (CAT).

- Principe

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus. Ce sont des enzymes tétramériques, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH. Ces enzymes interviennent dans la défense de la cellule contre le stress oxydant en éliminant les espèces réactives et en accélérant la réaction spontanée de l'hydrolyse du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) toxique pour la cellule en eau et en oxygène (Aebi, 1974).



L'activité de la CAT est mesurée à 240nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

- Mode opératoire

Réactifs	Blanc (µl)	Essai (µl)
Tampon phosphate (PBS) (0.1 M, pH 7.4)	800	780
H ₂ O ₂ (0.5 M)	200	200
Homogénat	–	20

La lecture de l'absorbance se fait à 340 nm après 15 s de délai et dure 60 s de mesure.

- Calcul de l'activité de la CAT

L'activité de la CAT est exprimée en micromoles de H₂O₂ par minute par milligramme de protéines (µmol de H₂O₂/min/mg prot) selon la formule suivante :

$$\text{CAT } (\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2/\text{min/mg prot}) = (\Delta \text{DO} \times d) / (\varepsilon \times X \times L \times 0.02)$$

- ΔDO : variation de la densité optique par minutes, c'est-à-dire pour :
- AI (Absorbance initiale) : 15 s ;
- AF (Absorbance finale) : 1min ;
On fait : $(AI - AF) \times 4/3$ par min ;
- d : dilution de l'échantillon au début ;
- ε : Coefficient d'extinction moléculaire de l'eau oxygénée, $\varepsilon \text{ H}_2\text{O}_2 = 0.043 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} = 0,043 \mu\text{mol cm}^{-1}\text{ml}^{-1}$;
- L : Trajet optique de la cuve = 1 cm ;
- X : Concentration de protéines en mg/ml.

-Analyse statistique

Les données obtenues sont analysées en utilisant le logiciel SigmaPlot. Les résultats sont présentés sous forme de moyennes \pm S.E.M (erreur-type de moyenne). L'étude statistique est réalisée en utilisant le modèle d'analyse des variances one-way ANOVA pour comparer entre les différents groupes, puis dans la mesure du possible, le test de Différence Significative Minimale (LSD) de Fisher est réalisé pour comparer entre deux groupes traités et le groupe témoin. La signification statistique a été conventionnellement fixée à $p < 0,05$.

Résultats et Discussion

X. Aspect neurodéveloppement

XI. Résultats de l'étude des paramètres physiques chez les souriceaux

XI.1.1 Résultats des paramètres physiques étudiés

En ce qui concerne détachement des oreilles, l'apparition des poils, l'éruption des incisives, l'apparition du sexe et l'ouverture des yeux, les groupes traités avec 0.5 mg/l, 25 mg/l et 50 mg/l n'ont montré aucune différence significative par rapport aux témoins, (**Tableau IV**). Par contre, nous avons observé un retard d'ouverture des yeux chez les souriceaux traités avec 14 mg/l par rapport aux témoins (**Tableau III**).

Tableau III : Effet du glyphosate sur la maturation physique des souriceaux. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M. # = * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. Traités 0.5 mg/l (n=33), 14 mg/l (n=66) et les témoins (n=49), (One Way ANOVA).

	Témoin		0.5 mg/l		14mg/l	
	Moyenne	SEM	Moyenne	SEM	Moyenne	SEM
1 ^{er} jour d'apparition du sexe	9.571	0,369	9,4	0,245	10.25	0,313
1 ^{er} jour d'apparition des poils	6,143	0,261	5,8	0,2	6	0,189
1 ^{er} jour d'ouverture des yeux	13.813	0,298	14,1	0,458	15,125**	0,206
1 ^{er} jour de détachement des oreilles	4,643	0,283	4,9	0,1	4,688	0,162
1 ^{er} jour d'éruption des incisives	9.857	0,34	10	0,447	10,375	0,28

Tableau IV : Effet du glyphosate sur la maturation physique des souriceaux. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M. # = * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. Traités 25 mg/l (n=53), 50 mg/l (n=61) et les témoins (n=48), (One Way ANOVA).

	Témoin		25 mg/l		50mg/l	
	Moyenne	SEM	Moyenne	SEM	Moyenne	SEM
1^{er} jour d'apparition du sexe	10,167	0,307	9,714	0,286	11	0,408
1^{er} jour d'apparition des poils	5,833	0,167	6,143	0,143	6,4	0,163
1^{er} jour d'ouverture des yeux	14,333	0,279	14,143	0,34	14,814	0,369
1^{er} jour de détachement des oreilles	4,111	0,2	4,091	0,211	4,429	0,137
1^{er} jour d'éruption des incisives	11,4	0,267	11,1	0,277	11,615	0,241

XI.1.2 Le poids, la longueur du corps et de la queue des souriceaux

L'exposition prénatale et postnatale au Glyphosate a montré une diminution significative du poids corporel des souriceaux traités par 25mg/l et 50 mg/l aux jours postnataux PN5, PN9, PN12, PN15 et PN17 par rapport aux témoins, Cependant au jour 21 après la naissance, il n'y a pas de différence significative entre les traités avec 25 mg/l, 50 mg/l et les témoins. (**Figure A**).

Concernant la longueur de la queue, le traitement avec GLP à la dose de 50mg/l a entraîné une diminution significative au jour PN5 ($p=0.031$, $f=4.11$) après la naissance, néanmoins aucune différence significative entre les souriceaux traités avec 50mg/l et les témoins aux jours postnataux PN9 ($p=0.105$), PN12 ($p=0.446$), PN15 (0.435), PN17 ($p=0.598$) et PN21 (0.759) n'a été observée. De même, aucune différence significative de la longueur de la queue n'a été observée chez les souriceaux traités avec 25 mg/l aux jours PN5 ($p=0,691$), PN9 ($p=0.105$), PN12 ($p=0.446$), PN15 (0.435), PN17 ($p=0.598$) et PN21 (0.759) par rapport aux témoins (**Figure B**).

L'exposition au Glyphosate a montré une diminution de la longueur corporelle des souriceaux traités avec 50 mg/l et 25 mg/l aux jours PN9 ($p=0.014$, $f=3.539$), ainsi qu'une diminution significative a été observée chez les souriceaux traités 50 mg/l aux jours postnatux PN12 ($p=0.003$, $f=7.172$) et PN21 ($p=0.041$, $f=5.426$) par rapport aux témoins. Mais aucune différence significative chez les souriceaux traités à 50 mg/l aux jours PN5($p= 0,065$), PN15($p= 0,461$) et PN17($p= 0,085$), ainsi que ceux traités avec 25 mg/l aux jours PN5($p= 0,065$), PN12 ($p= 0,753$), PN15 ($p= 0,096$), PN17 ($p= 0,085$) et PN21 ($p=0,279$) n'a été relevée (**Figure C**).

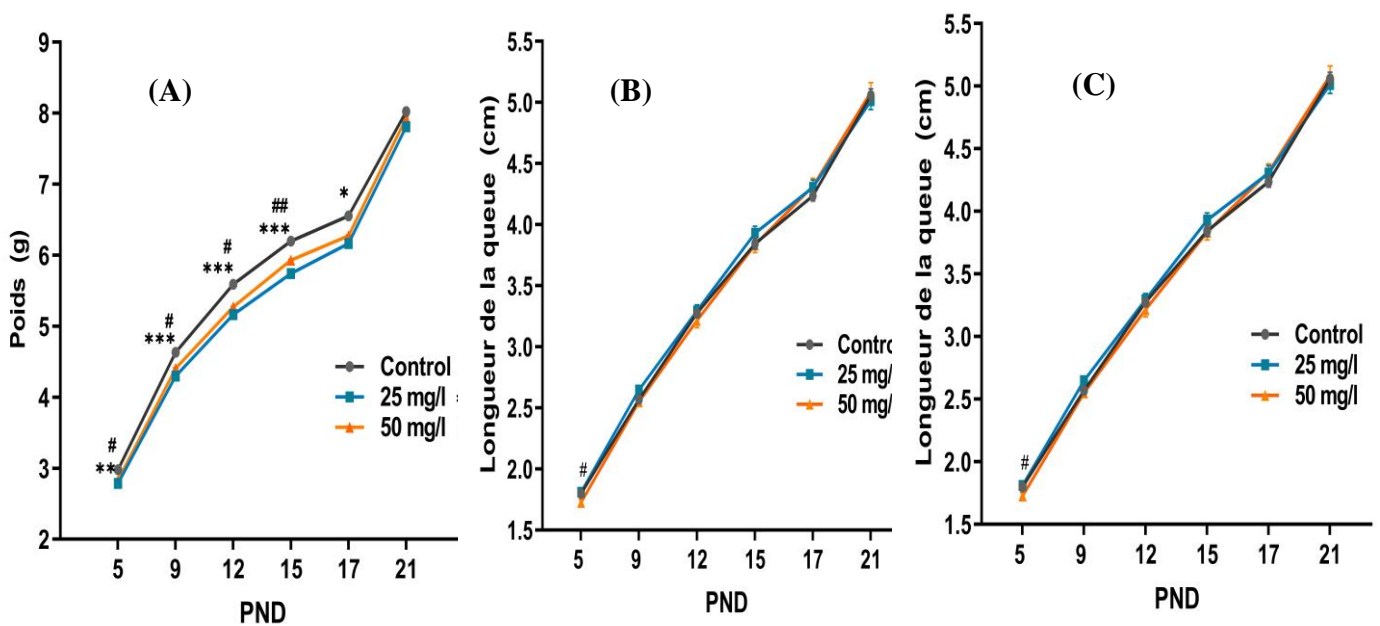


Figure 25: Evolution du poids (A), de la longueur de la queue (B) et de la longueur du corps (C) chez les souriceaux traités et leurs témoins aux jours postnatux PN5, PN12, PN15, PN17 et PN21. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M. # = * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$. Traités 25 mg/l (n=53), 50 mg/l (n=61) et les témoins (n=48), (One Way ANOVA).

XII. ANALYSE DU COMPORTEMENT

XII.1 Les tests neurodéveloppementaux

Dans cette partie nous nous sommes intéressés à analyser les effets de la bioaccumulation des quatre doses 0.5mg/l,14mg/l,25mg/l et 50mg/l du Glyphosate sur le fonctionnement cérébral notamment en relation avec les altérations du développement sensorimoteur chez les souriceaux durant la période d'allaitement.

XII.1.1 Surface righting reflex (réflexe de redressement sur une Surface)

L'analyse statistique n'a révélé aucune différence significative chez les souriceaux traités avec 0.5 mg/l, 14 mg/l et 25 mg/l de glyphosate par rapport aux témoins au jour PN7. Une différence a été observée chez les souriceaux traités avec 50 mg/l au jour PN 7 ($p=0.002$; $f=6,666$). Par contre la surface réflexe de redressement est significative chez les souriceaux traités avec 0.5 mg/l, 14 mg/l, 25 mg/l et 50 mg/l par rapport aux témoins au jours Postnataux PN5 ($p= 0.016$; $f=4.714$; $p= 0.007$; $f=4.714$, $p= 0,02$; $f= 12,641$ et $p= 0,001$; $f= 12,641$) (**Figure 26**).

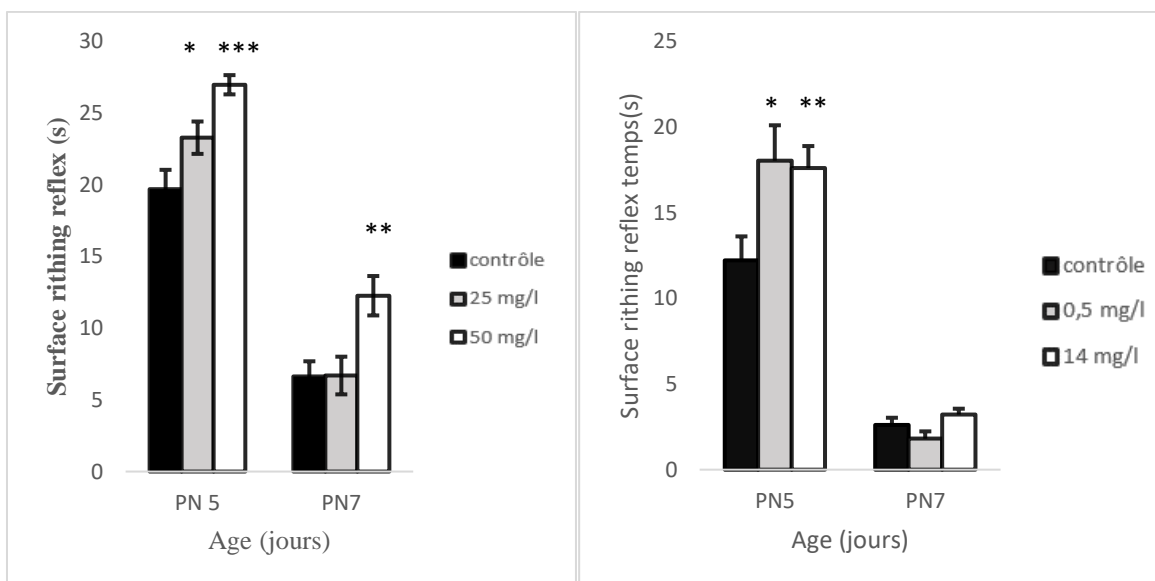


Figure 26: Test Surface réflexe de redressement. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M ; * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$. 0.5mg/l (n=33),14mg/l (n=66), Témoins (n=49), Traités 25 mg/l (n=53), 50 mg/l (n=61) et les témoins (n=48), (One Way ANOVA).

XII.1.2 Évitement de la falaise (Cliff avoidance)

La différence au niveau du temps nécessaire des souriceaux pour se retourner avec un angle de 120° au contact du bord de la table dans le test "cliff avoidance" n'est pas significative entre les groupes traités avec 0.5 mg/l, 14 mg/l, 25 mg/l et 50 mg/l et leurs témoins (**Figure 27**).

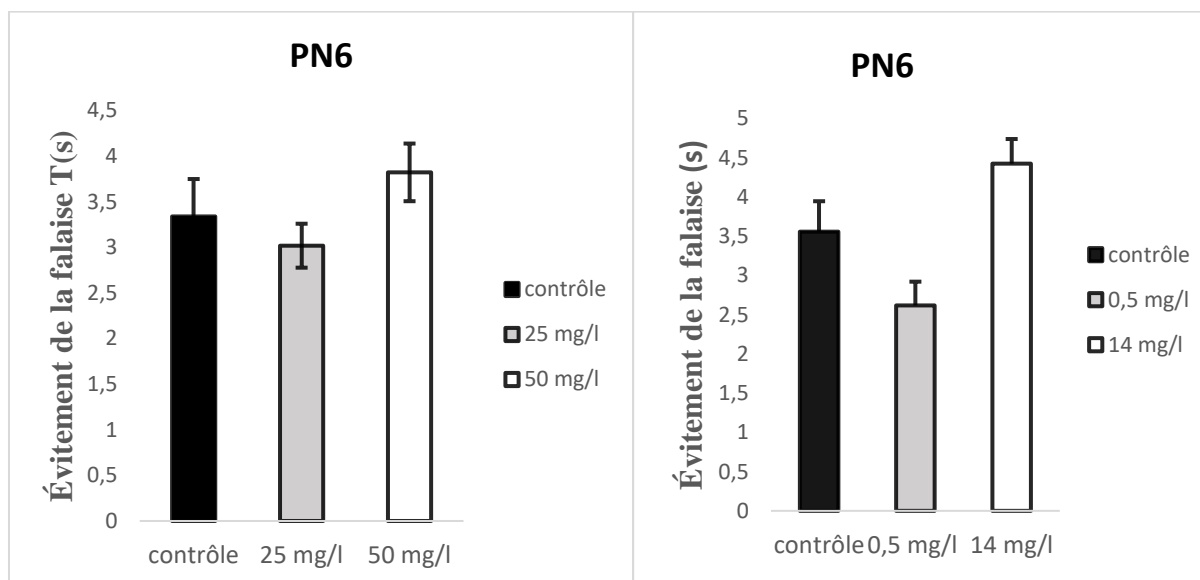


Figure 27: Effet du traitement du Glyphosate sur les réponses du test d'évitement de la falaise au PN 6. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. 0.5mg/l (n=33), 14mg/l (n=66), Témoins (n=49), Traités 25 mg/l (n=53), 50 mg/l (n=61) et les témoins (n=48), (One Way ANOVA).

XII.1.1 Test de réaction anti-gravitaire (*négative geotaxis*)

Le test de réaction anti-gravitaire est utilisé pour étudier la coordination motrice et la sensibilité vestibulaire chez les souriceaux. L'analyse des données relevées dans ce test a montré que les souriceaux traités à 14 mg/l, 25mg/l et à 50 mg/l du Glyphosate a entraîné une augmentation significative du temps nécessaire pour tourner du 180° dans une surface inclinée de 45° pour les trois jours postnataux. Il n'y a pas de différences significatives entre les souriceaux traités 0.5 mg/l et les témoins. En plus, nous avons remarqué une tendance au jour PN9, plutôt que véritablement non significative chez Les souriceaux traités par 25 mg/l par rapport à leurs témoins (**Figure 28**).

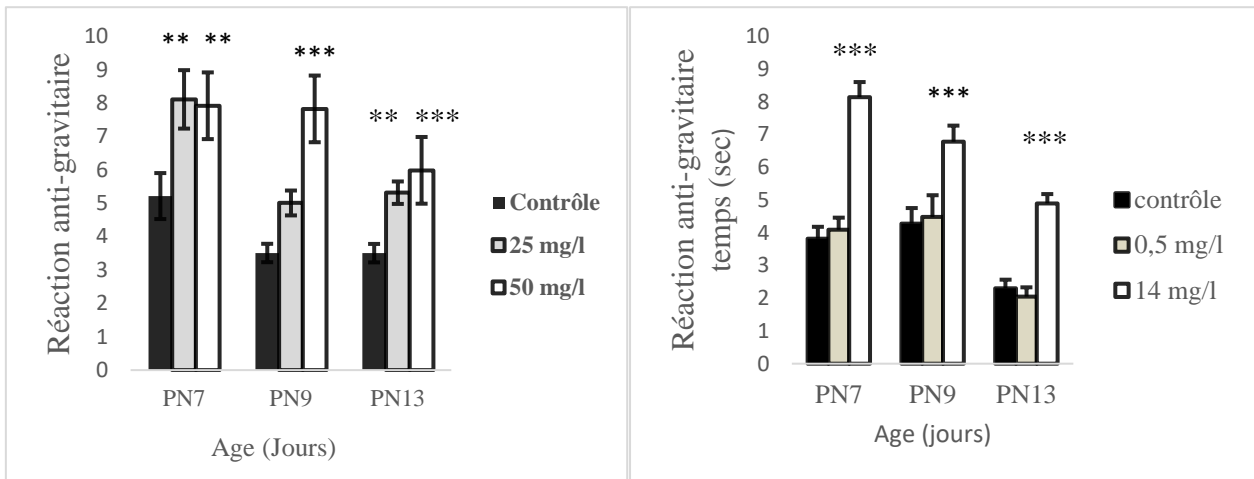
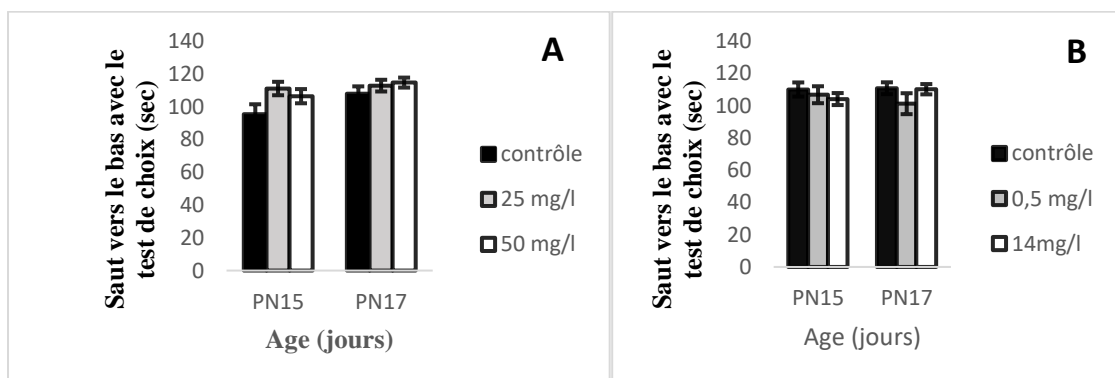
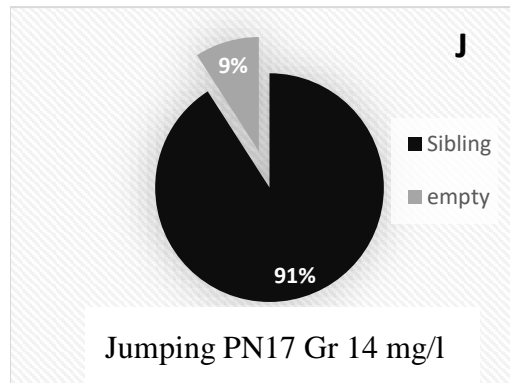
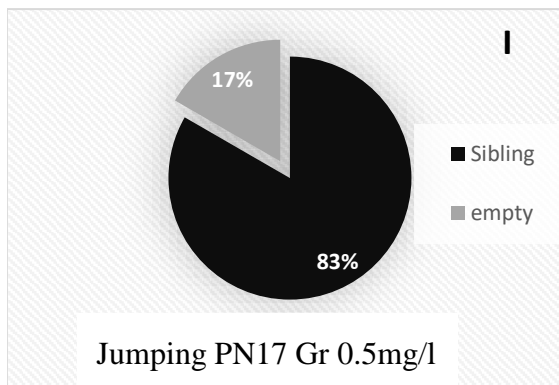
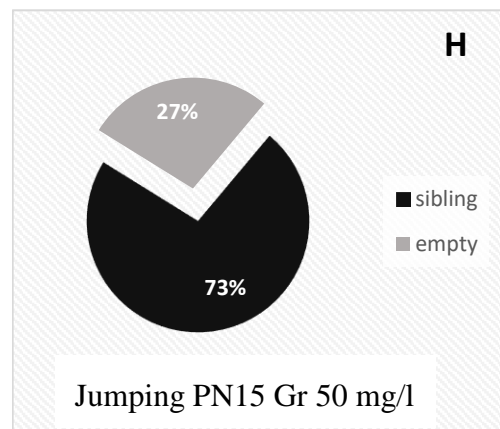
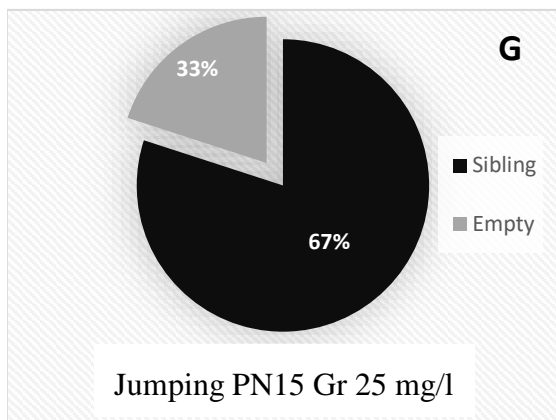
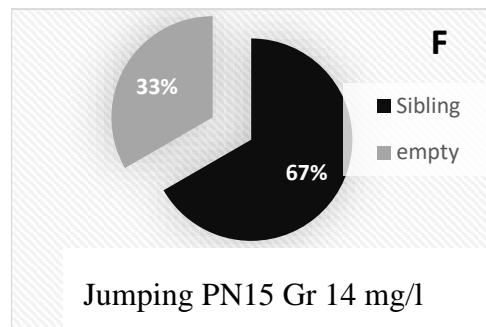
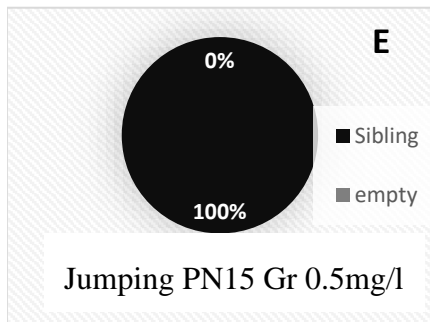
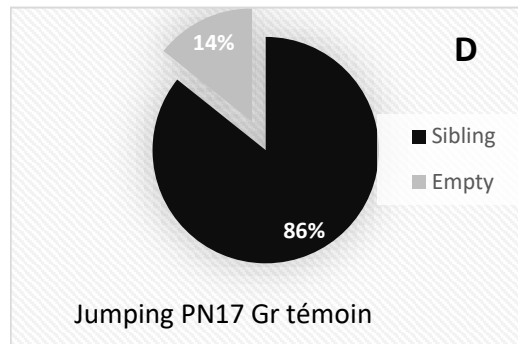
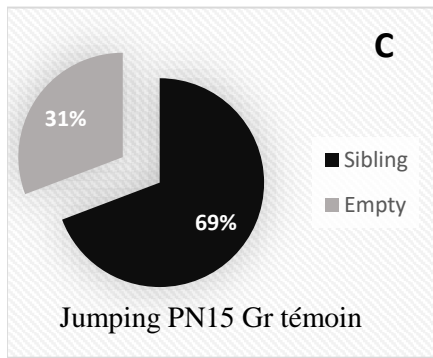


Figure 28: Résultats de l'effet du Glyphosate sur le comportement des souriceaux traités 25mg/l ;50mg/l par rapport aux témoins, « Test de réaction anti-gravitaire ». Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. 0.5mg/l (n=33), 14mg/l (n=66), Témoins (n=49), Traités 25 mg/l (n=53), 50 mg/l (n=61) et les témoins (n=48), (One Way ANOVA).

XII.1.2 Saut vers le bas avec le test de choix (Jumping down choice cage test)

L'analyse statistique des données n'a montré aucune différence significative dans le temps nécessaire des souriceaux pour sauter dans l'une des deux cages (vide ou la cage de la fratrie) chez les quatre groupes traités avec 0.5mg/l, 14mg/l, 25mg/l et 50mg/l de Glyphosate par rapport aux témoins. Il est à noter que le pourcentage de sauts dans la cage vide est toujours important chez les souriceaux traités 50 mg/l (75%) par rapport aux témoins (14%) au jour postnatal 17, alors que les souriceaux témoins choisissent de sauter dans la cage de la fratrie (86%) de manière significative par rapport aux souriceaux traités (25%) 50 mg/l. Néanmoins aucune différence significative dans les jours postnataux PN15 et PN17 entre les souriceaux traités à 25 mg/l et à 50 mg/l et les témoins (**Figure 29**).





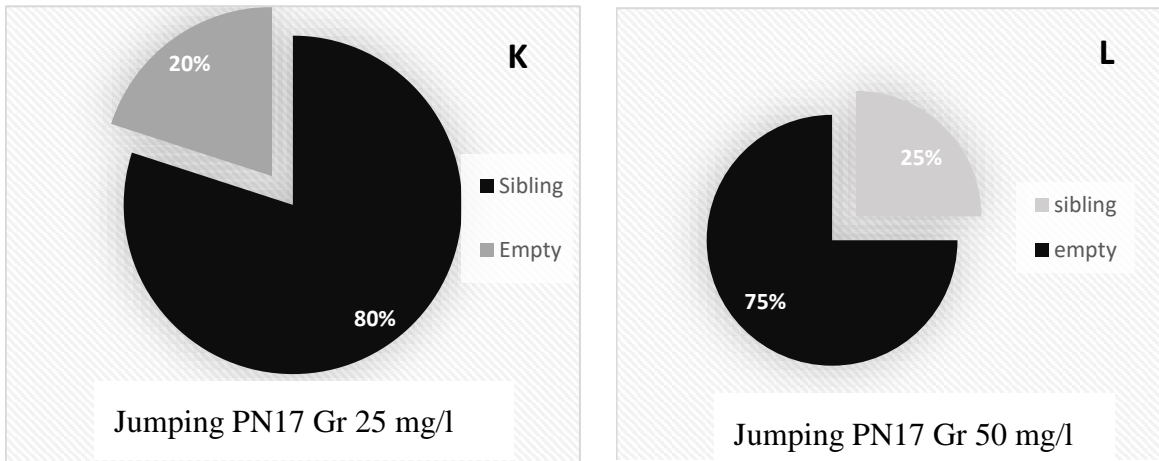


Figure 29: Effet du traitement par le Glyphosate sur les réponses des souriceaux au test

Figure 30: Effet du traitement par le Glyphosate sur les réponses des souriceaux au test "Jumping down choice cage », (A et B) le Temps pour sauter dans l'une des deux cages, (C et D) le choix des souriceaux témoins pour sauter dans les deux cages aux PN15 et PN17, (E ,F, G et H) le choix des souriceaux traités 0.5mg/l,14 mg/l,25mg/l et 50 mg/l pour sauter dans les deux cages au PN15,(I ,J,K et L) le choix des souriceaux traités 0.5mg/l,14 mg/l,25mg/l et 50 mg/l pour sauter dans les deux cages au PN17. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. 0.5mg/l (n=33),14mg/l (n=66), Témoins (n=49), Traités 25 mg/l (n=53), 50 mg/l (n=61) et les témoins (n=48), (One Way ANOVA).

XII.1.3 Le développement de la natation "Swiming development"

L'analyse statistique des paramètres du développement de la natation n'a révélé aucune différence significative chez deux groupes traités avec 0.5mg/l, 25mg/l et 50 mg/l de Glyphosate et leurs témoins aux jours PN10, PN12 et PN21 (**Figure 30**). Au niveau de l'angle, nous avons observé une diminution significative chez les souriceaux traités par 14 mg/l par rapport aux témoins.

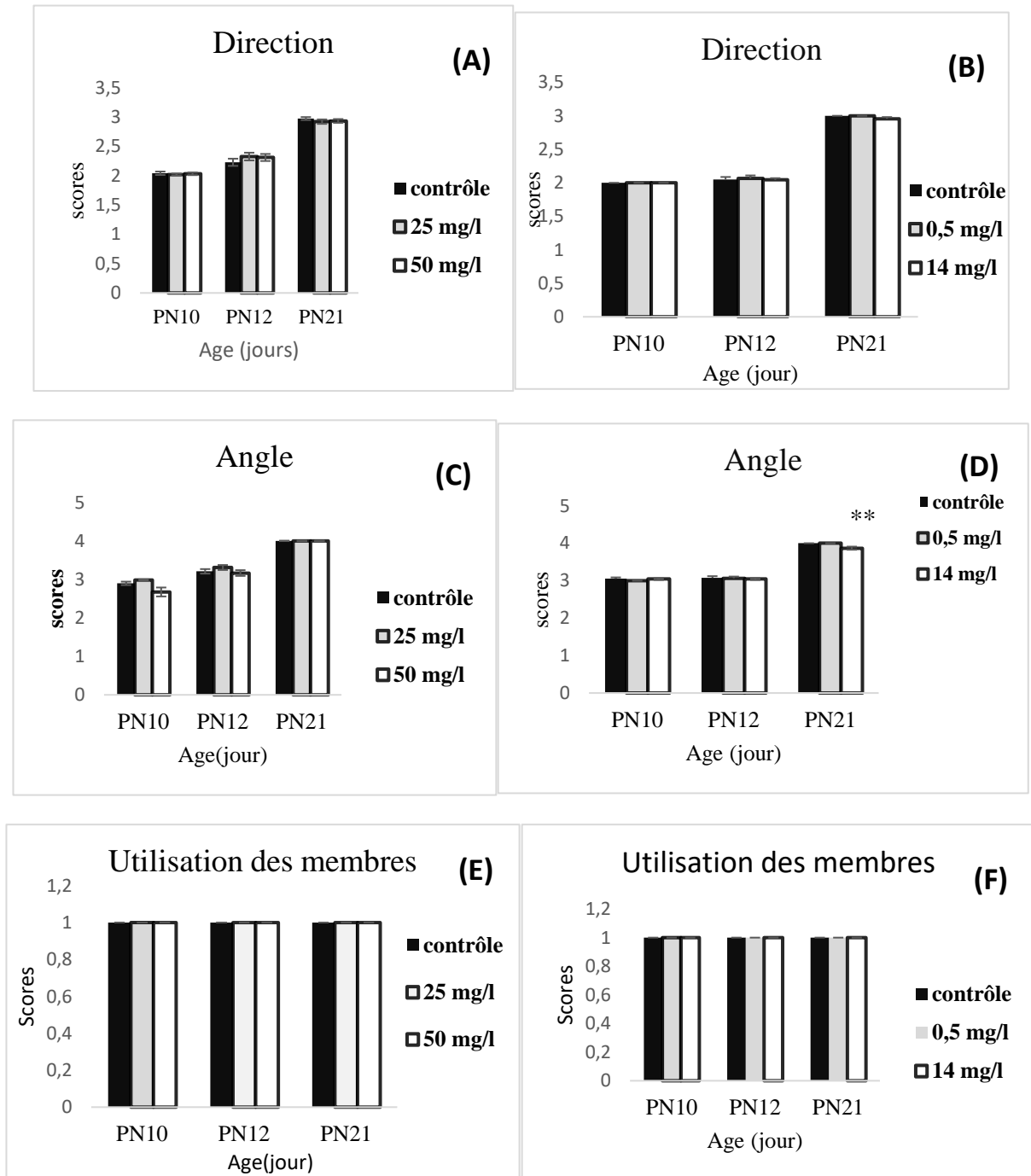


Figure 31: les paramètres du test "le développement de la natation ". (A et B) score direction, (C et D) score angle, (E et F) score utilisation des membres. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. 0.5mg/l (n=33), 14mg/l (n=66), Témoins (n=49), Traités 25 mg/l (n=53), 50 mg/l (n=61) et les témoins (n=48), (One Way ANOVA).

XII.2 Comportement Maternel

L'analyse statistique des résultats du comportement maternel a révélé que les femelles traitées par 25 mg/l et 50mg/l, allaitent plus passivement par rapport aux femelles témoins, et une diminution significative de l'allaitement actif a été remarqué chez les deux groupes traités 25 mg/l et 50 mg/l par rapport au groupe témoin, alors qu'elles ne présentent pas de différence significative concernant l'allaitement total (**Figure 31**). Dans tous les cas l'effet du traitement au GLP 25 ou 50 mg/l entraîne un effet dose-dépendant. En outre, nous avons montré que les activités maternelles chez les femelles traitées par 25mg/l et 50 mg/l du Glyphosate ont été diminuées significativement pour ce qui est du paramètre contact des souriceaux (**Tableau V**). De même, nous avons noté une diminution significative de l'activité non maternelle "femelle boit ". Il est à noter aussi une augmentation " l'auto toilettage de la femelle " chez les femelles traitées à 25 mg/l et à 50mg/l par rapport aux témoins (**Tableau VI**).

-Score d'allaitement

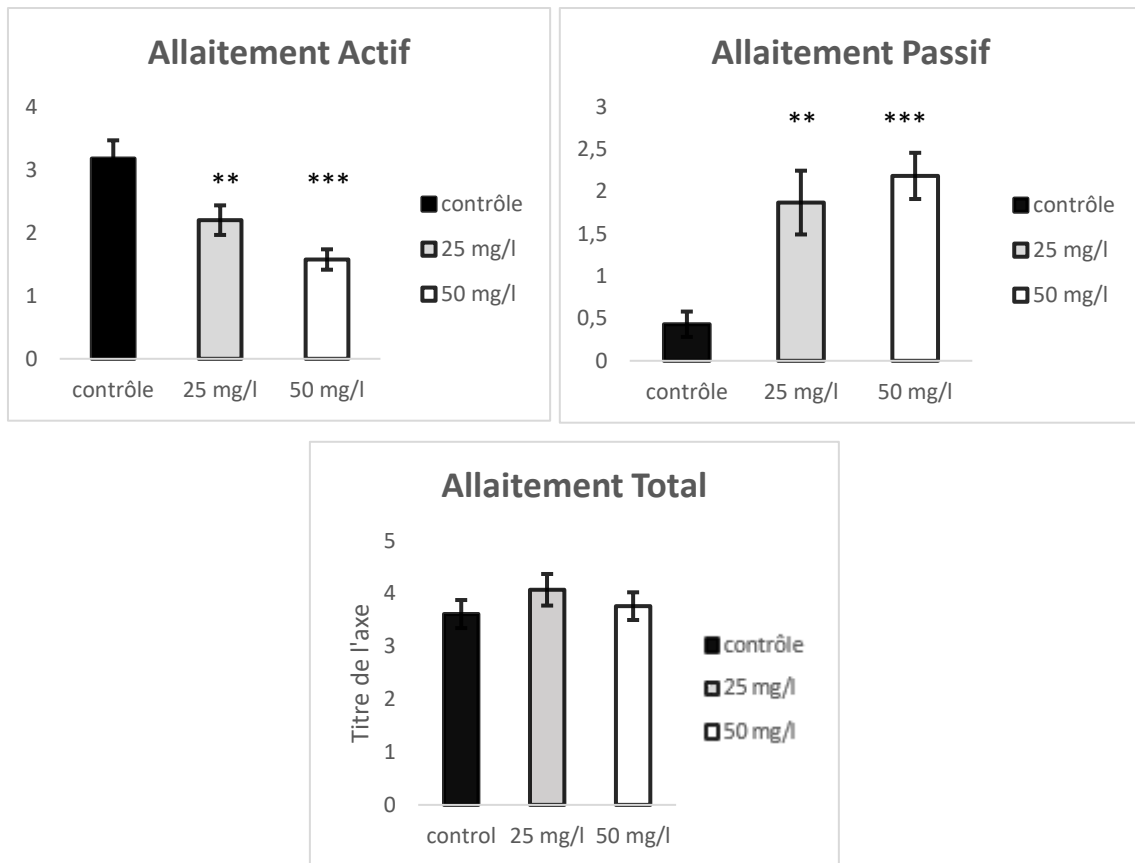


Figure 32: Effet du Glyphosate administré durant la gestation et après la mise bas sur l'allaitement des femelles traitées 25mg/l et 50 mg/l par rapport aux témoins (PN1-22). Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. Traités 25 mg/l (n=6), 50 mg/l (n=7) et les témoins (n=7), (One Way ANOVA).

Tableau V : Effet de l'administration de Glyphosate sur les activités maternelles. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. Traités 25 mg/l (n=6), 50 mg/l (n=7) et les témoins (n=7), (One Way ANOVA).

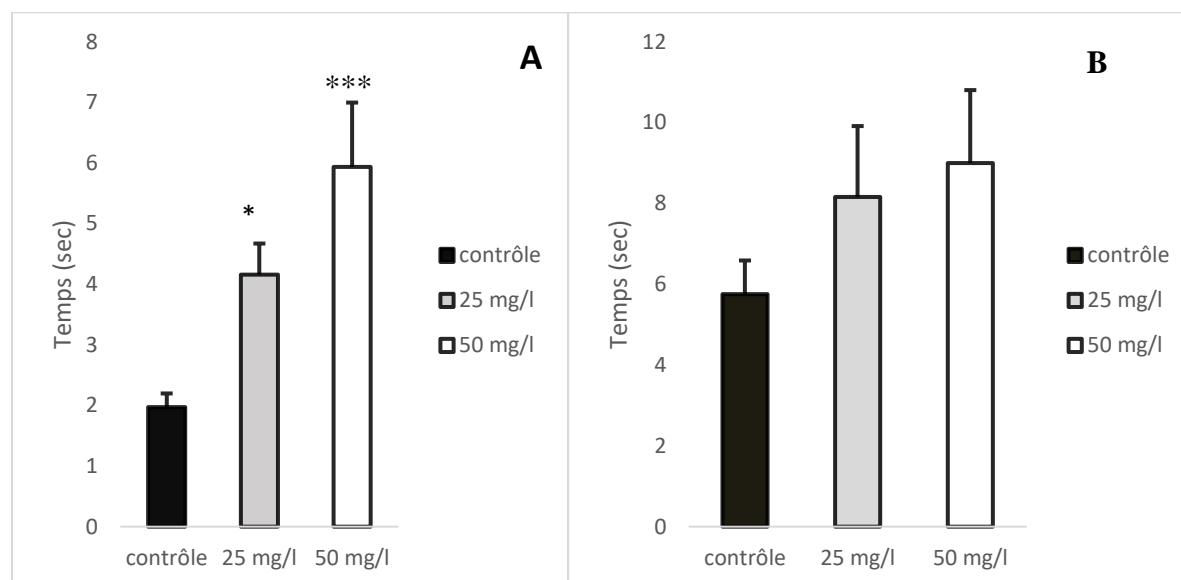
	Activités maternelles		
	Contrôle	25mg/l	50mg/l
Dans le nid	3.748 \pm 0.332	3.913 \pm 0.326	3.533 \pm 0.453
Contact avec souriceaux	0.328 \pm 0.0295	0.18 \pm 0.0363**	0.159 \pm 0.0306**
Toilettage des souriceaux	0.123 \pm 0.0497	0.143 \pm 0.0269	0.175 \pm 0.0542
Porter les souriceaux	0.102 \pm 0.036	0.1 \pm 0.0427	0.0737 \pm 0.0223
Manipulation des copeaux de nid	0.139 \pm 0.031	0.101 \pm 0.0158	0.238 \pm 0.0756

Tableau VI: Effet de l'administration de Glyphosate sur les activités non maternelles Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. Traités 25 mg/l (n=6), 50 mg/l (n=7) et les témoins (n=7), (One Way ANOVA)

	Activités non maternelles		
	Contrôle	25mg/l	50mg/l
Femelle mange	2.419 \pm 0.210	2.338 \pm 0.282	2.356 \pm 0.203
Femelle boit	0.689 \pm 0.0938	0.332 \pm 0.0526*	0.374 \pm 0.121*
Auto-toilettage de la femelle	0.62 \pm 0.0634	1.058 \pm 0.114*	1.018 \pm 0.162*
Rearing	0.960 \pm 0.168	1.398 \pm 0.152	1.636 \pm 0.254
Reniflement (sniffing)	0.286 \pm 0.0933	0.335 \pm 0.0565	0.414 \pm 0.109
Femelle se repose avec yeux fermés	1.568 \pm 0.24	1.922 \pm 0.334	1.468 \pm 0.203

XII.2.1 Résultats du test de récupération des souriceaux (Retrieval Test)

L'analyse des données relevées dans ce test de récupération des souriceaux a montré une augmentation significative du temps pour récupérer le premier souriceau jusqu'au nid chez les femelles traitées 25 mg/l ($p=0.03$; $f=9.365$) et 50 mg/l ($p=0.001$; $f=9.365$) par rapport aux témoins. De plus, les femelles traitées 50mg/l prennent un temps plus élevé que leurs témoins pour récupérer tous les souriceaux au nid. Cependant, aucune différence significative n'a été observée pour "récupérer le premier souriceau au nid" (« **Figure 32**).



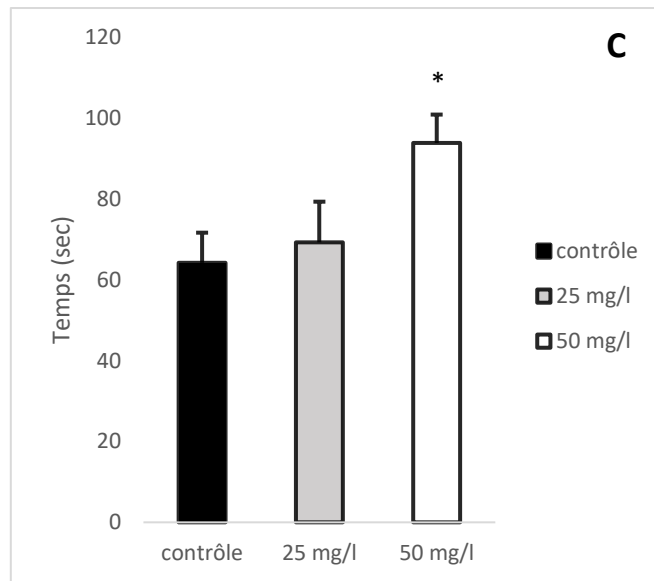


Figure 33: Effet du Glyphosate administré durant la période de gestation et après la mise bas sur les paramètres du test de récupération des souriceaux durant les premiers 12 jours postnataux. Temps pour contacter le premier souriceau (A), Temps pour récupérer le premier souriceau jusqu'au nid (B) et Temps pour ramener tous les souriceaux au niveau du nid (C). Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. Traités 25 mg/l (n=6), 50 mg/l (n=7) et les témoins (n=7), (One Way ANOVA).

XIII. Résultats de l'étude du comportement des souriceaux au 23^{ème} jour postnatal

XIII.1.1 Test de labyrinthe en Y (y-Maze)

Dans ce test "Labyrinthe en Y », l'évaluation de l'alternance spontanée se détermine par le pourcentage d'alternance. Le test d'analyse de la variance (ANOVA) précise que le pourcentage d'alternance et le nombre des entrées dans les trois bras sont plus bas chez les deux groupes de souris mâles exposées aux 25 mg/l et 50 mg/l du Glyphosate que chez les souris mâles non exposées ($p=0.003$; $f=7,546$, $p=0.002$; $f=7,546$, $p=0.01$; $f=5.956$, $p=0.003$; $f=5.956$). Alors que le pourcentage d'alternance et le nombre des entrées dans les trois bras sont non significatifs chez les deux groupes traités à 0.5 mg/l et à 14 mg/l par rapport aux témoins (**Figure 33**).

Nous suggérons donc que l'exposition au Glyphosate diminue le niveau de l'alternance spontanée chez les souris mâles. Nous pouvons en conclure que par ce test, nous détectons un effet d'altération de la mémoire des souris mâles par le glyphosate.

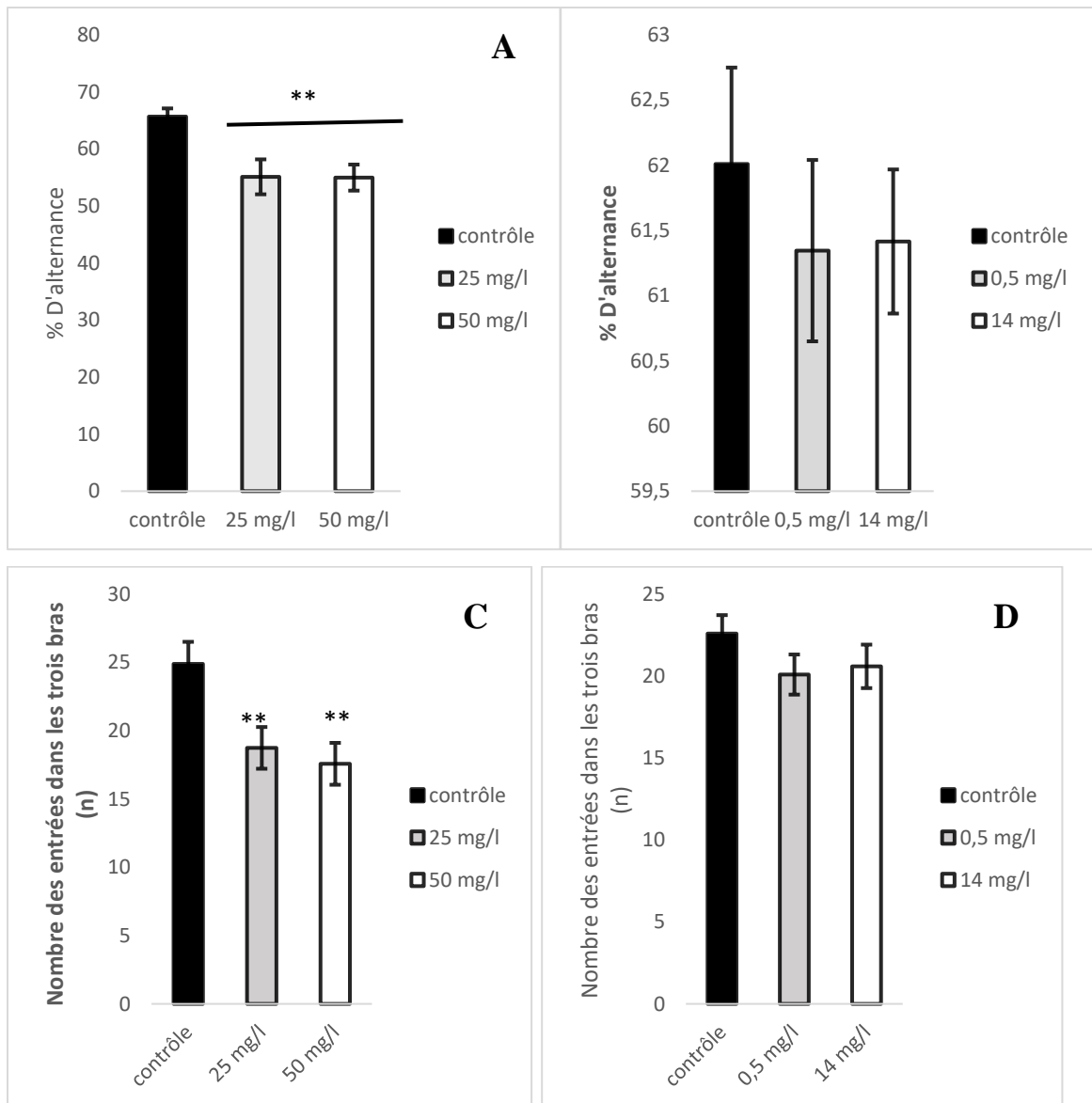
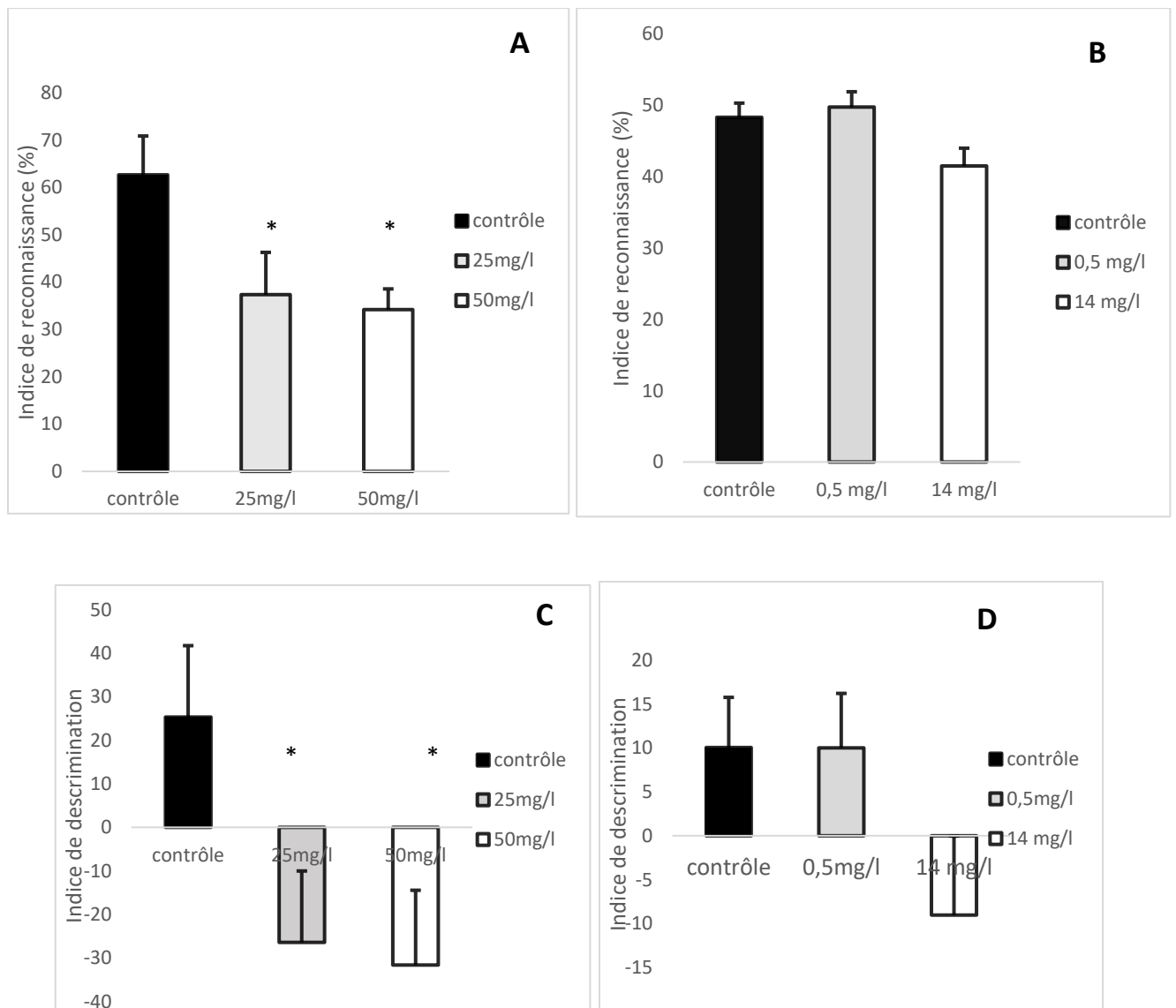


Figure 34: Evolution du pourcentage d'alternance (A et B) et le Nombre des entrées dans les trois bras (C et D) obtenus par le test du labyrinthe en Y chez les souris mâles traités 0.5 mg/l (n=10), 14 mg/l (n=10), 25 mg/l (n=12) et 50 mg/l (n=12) du Glyphosate et les témoins (n=12). Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

XIII.1.2 Test reconnaissance des objets

Dans ce test, nous avons évalué les effets du glyphosate sur les paramètres suivants : le temps d'exploration des deux objets présentés A et B, l'indice de reconnaissance et sur l'indice de discrimination chez les souriceaux traités au Glyphosate par rapport aux témoins. Les résultats obtenus dans ce test ont montré une diminution significative de l'indice de reconnaissance et l'indice de discrimination chez les groupes traités par 25 mg/l ($p=0,023$, $F=4.398$; $0,011$,

F=4.398) et 50 mg/l (p=0,018 ; F=4,644, 0,01 ; F=4,644). Ainsi, une augmentation significative du temps d'exploitation de l'objet A a été remarquée chez les deux groupes traités 25 mg/l (p=0,026, F=4.937) et 50 mg/l (p=0,005, F=4.937) par rapport aux témoins. A noter que l'indice de reconnaissance (IR), l'indice de discrimination (ID) et le temps passé à explorer les deux objets A et B ne présentent pas de différences significatives des groupes traités avec 0.5 mg/l par rapport aux témoins (**Figure 34**). Par contre, nous avons montré une diminution significative de l'IR chez les souriceaux traités par 14 mg/l par rapport aux témoins.



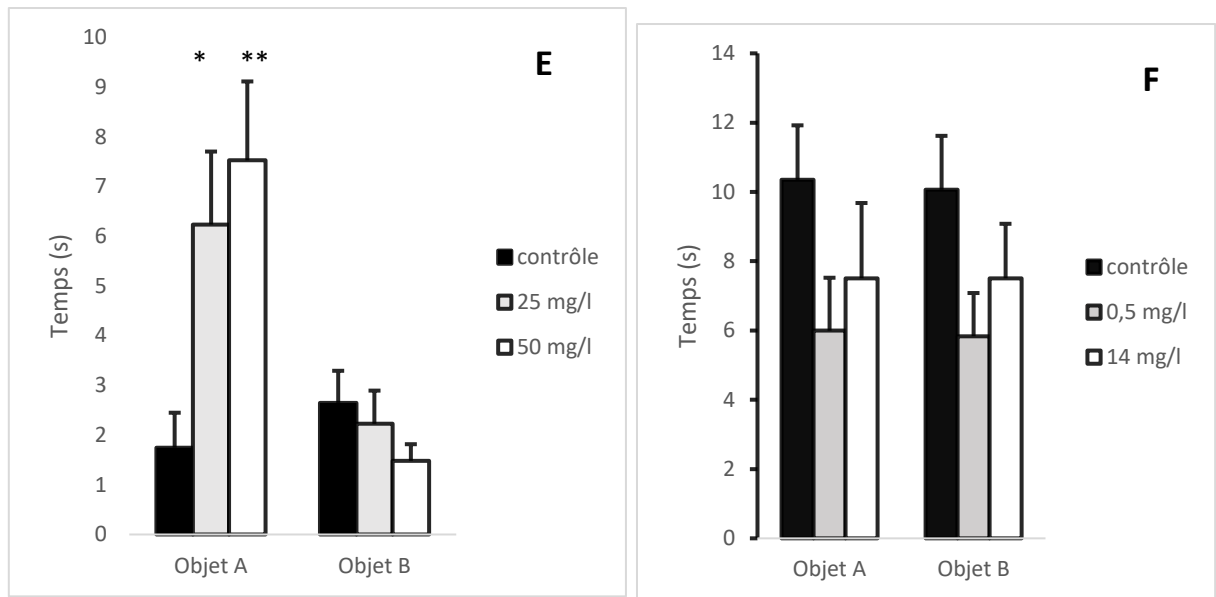
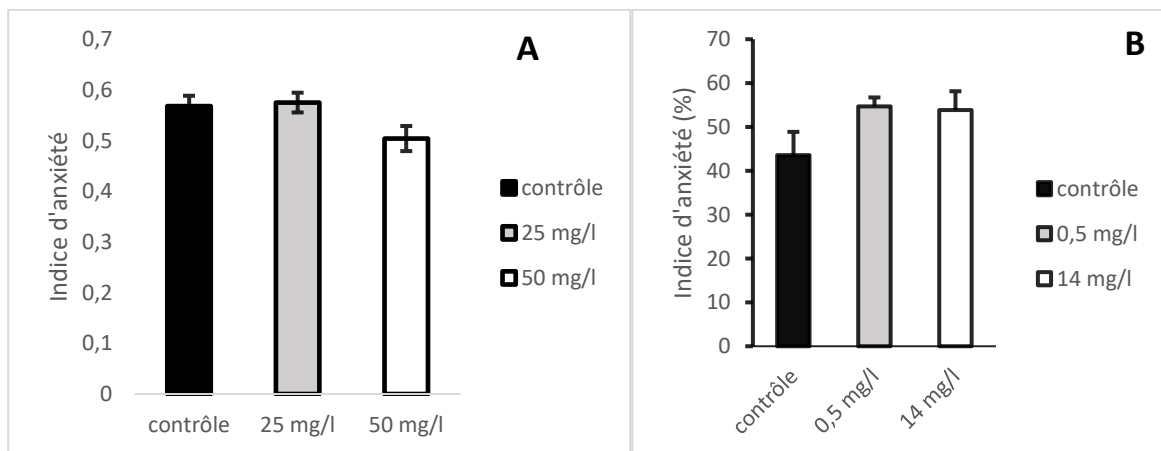


Figure 35 : les résultats de reconnaissance d'objet des souriceaux traités par le Glyphosate et leurs témoins : (E et F) le temps passé près de chaque objet A et B, (A et B) l'indice de reconnaissance, (C et D) l'indice de discrimination. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=12), 0.5mg/l (n=10),14mg/l (n=10),25mg/l (n=12) et 50mg/l (n=12). $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

XIII.1.3 Labyrinthe en croix surélevé (EPM)

L'analyse des résultats du test EPM n'a pas montré de différences significatives du temps dans les bras ouverts, le pourcentage des entrées dans les bras ouverts et l'indice d'anxiété chez les souriceaux exposés aux concentrations de 0.5 mg/l, 14 mg/l, 25mg/l et 50mg/l du Glyphosate par rapport aux témoins (**Figure 35**).



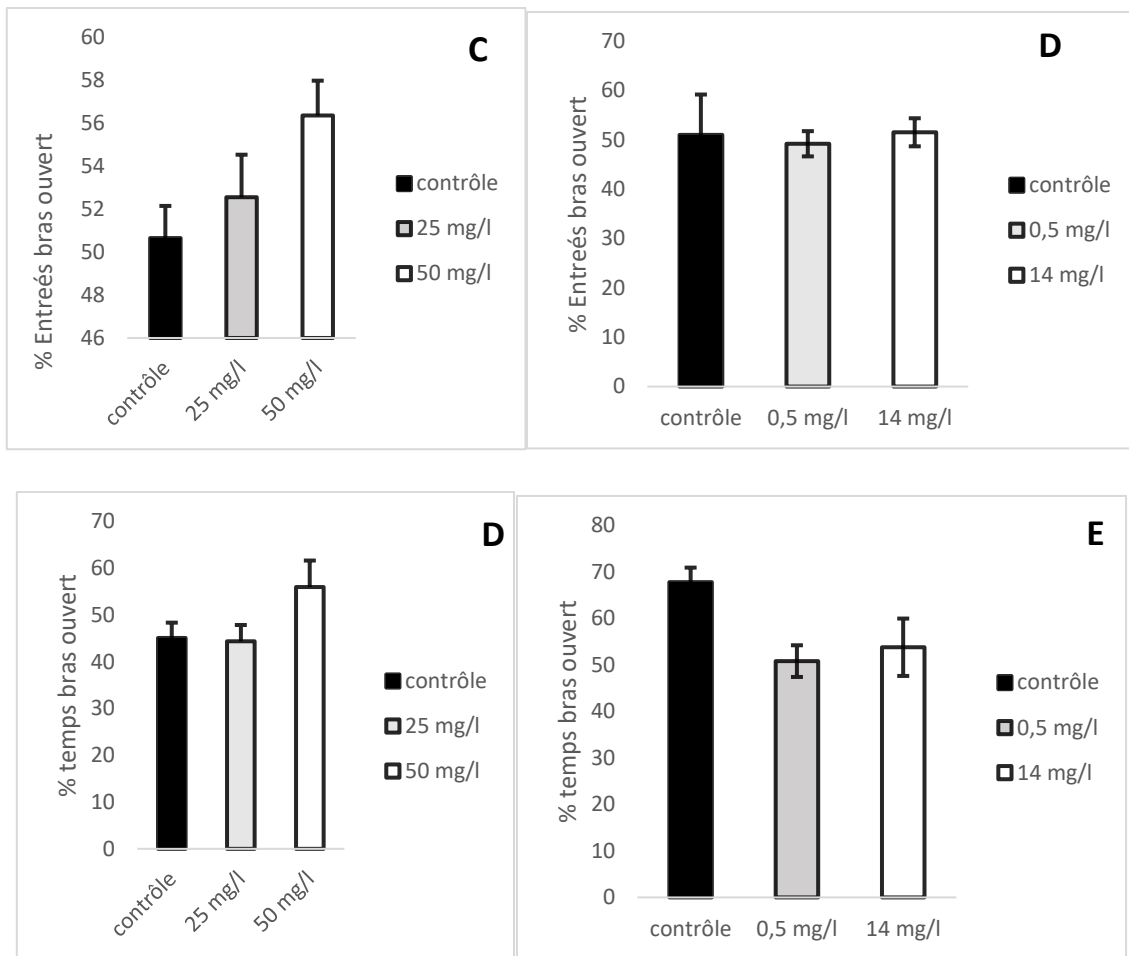


Figure 36: Résultats du test labyrinthe surélevé (EPM) : (A et B) l'indice d'anxiété, (C et D) pourcentage des entrées dans les bras ouverts, (E et F) pourcentage du temps dans les bras ouverts chez les souris traitées et témoins. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=12), 0.5mg/l (n=10), 14mg/l (n=10), 25mg/l (n=12) et 50mg/l (n=12). $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

XIII.1.4 Test d'Open Field

Dans ce test nous avons montré une augmentation significative du temps dans la périphérie du dispositif chez les souris traitées par 25 mg/l ($p=0,024$; $F=5,379$) et 50 mg/l ($p=0,004$; $F=5,379$) du Glyphosate par rapport aux témoins. Une diminution significative a été mise en évidence pour le temps dans le centre chez les deux groupes traités par 25 mg/l ($p=0,024$; $F=5,379$) et 50 mg/l ($p=0,004$; $F=5,379$) (**Figure 36**). Cependant aucune différence significative n'a été signalée pour le pourcentage des carreaux centraux, le nombre des carreaux centraux, des carreaux périphériques, des carreaux totaux et l'auto toilette (grooming) chez les deux groupes exposés au glyphosate et leurs témoins.

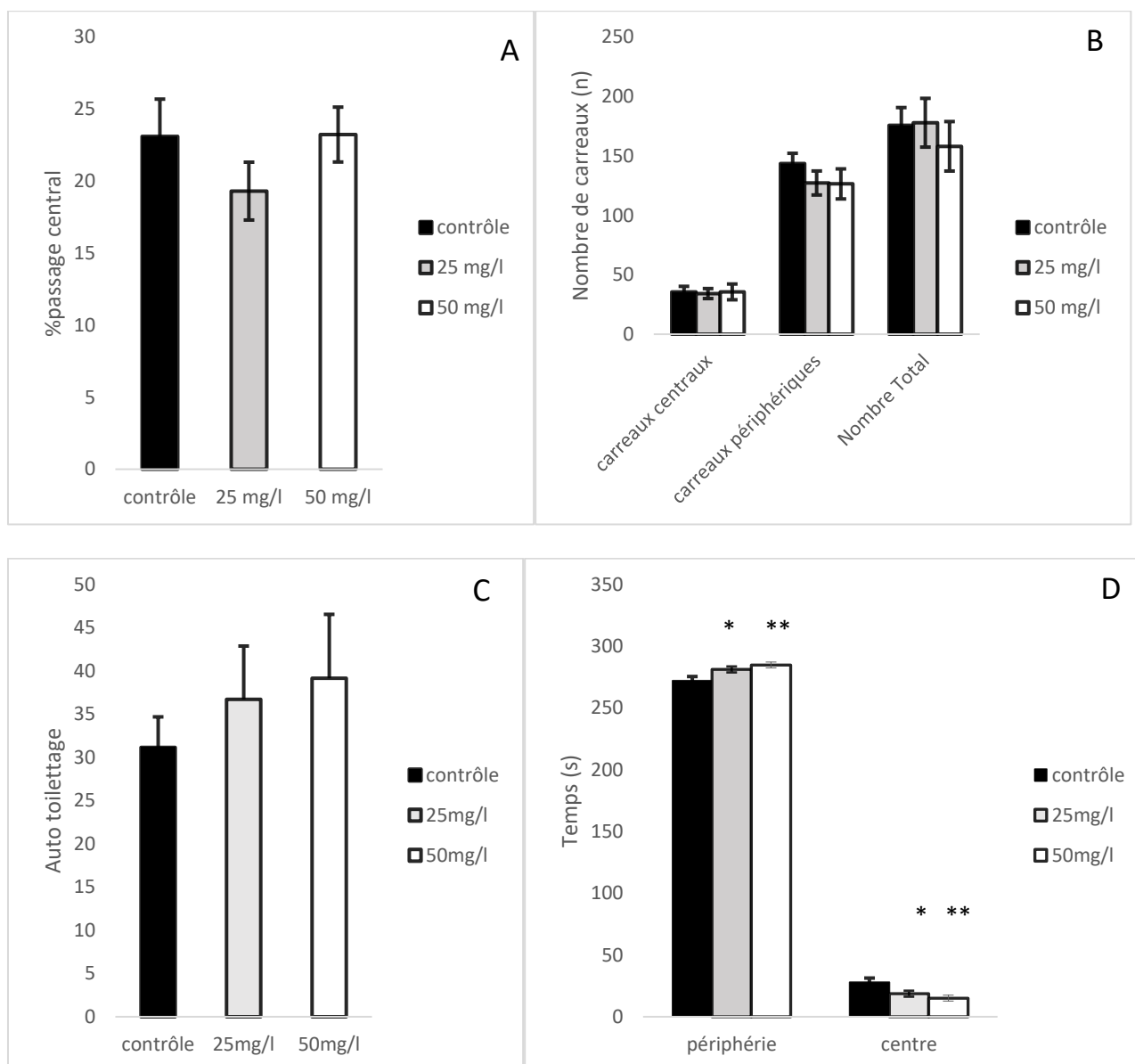


Figure 37: Résultats de l'effet du Glyphosate sur les paramètres du test "Open Field" : (A) pourcentage des carreaux centraux, (B) Nombres des carreaux centraux, périphériques, des carreaux totaux, (C) Grooming et (D) Temps passé à la périphérie et au centre. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.*; témoins (n=12), 0.5mg/l (n=10), 14mg/l (n=10), 25mg/l (n=12) et 50mg/l (n=12). $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

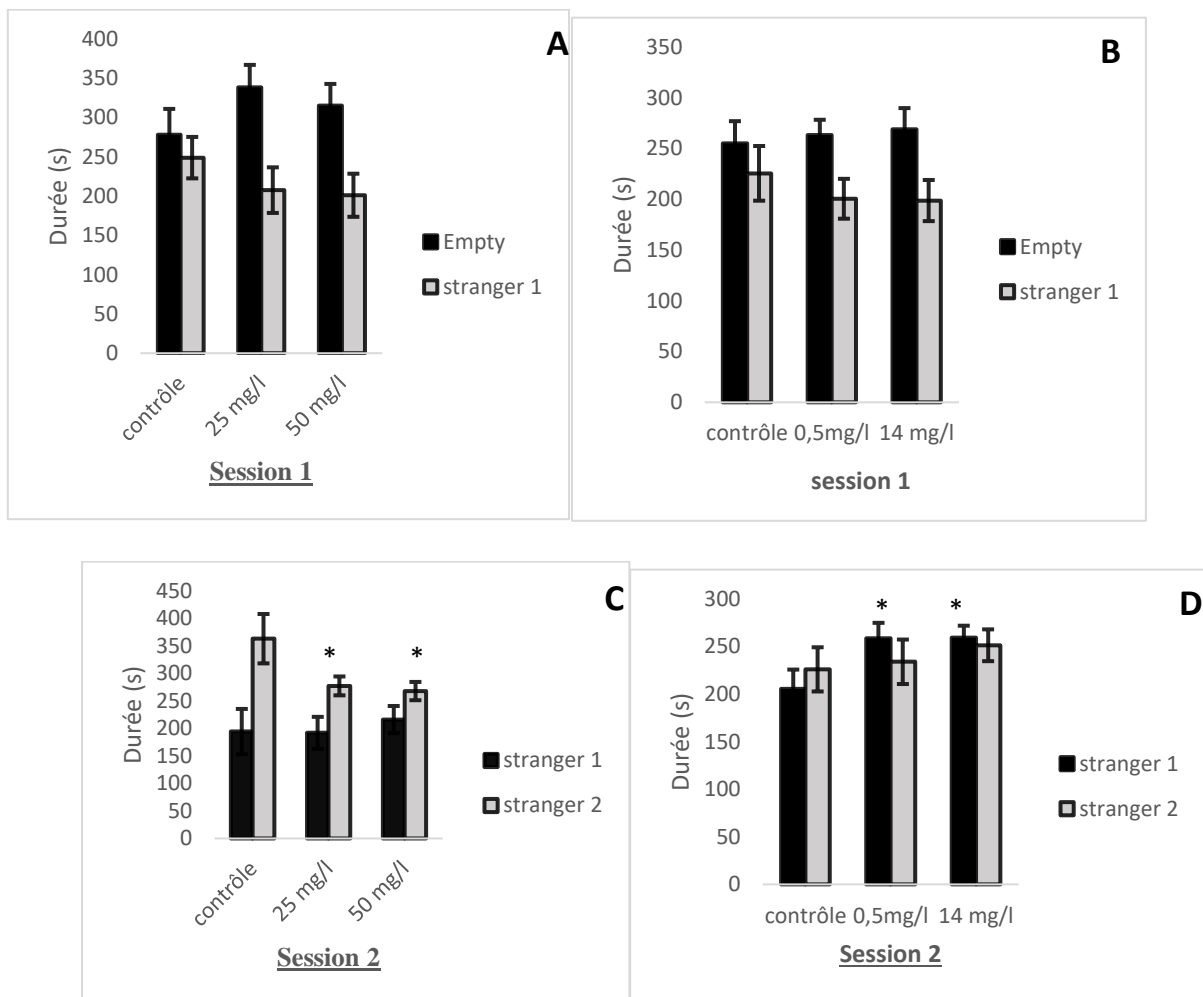
XIII.1.5 L'interaction sociale

Ce test a affirmé dans la deuxième session que le Glyphosate a diminué la sociabilité des souriceaux traités (25 mg/l et 50 mg/l) par la diminution du temps passé dans le "box" du souriceau étranger 2 par rapport aux témoins ($p = 0,022$; $F = 3,428$), ($p = 0,046$; $F = 3,428$). Par

contre, nous avons remarqué une augmentation significative du temps passé avec l'étranger 1 chez les souris traitées 0.5 mg/l ($p= 0,033$; $F= 3,424$) et 14 mg/l ($p= 0,03$; $F= 3,424$). Alors qu'il n'a pas montré de différence significative chez les souris traitées par 0.5 mg/l, 14 mg/l, 25 mg/l et 50 mg/l dans la première session.

En outre, l'analyse des résultats du test « interaction sociale » dans la deuxième session a révélé un effet significatif chez les souris traitées par 50 mg/l du Glyphosate sur le temps passé en contact de la grille "étranger 1" ($p= 0,016$; $F= 3,911$), et "étranger 2" ($p= 0,005$; $F= 4,667$), par rapport aux témoins, ainsi qu'une diminution significative a été constatée pour le temps en contact de la grille "étranger 1" chez les souris traitées 25 mg/l ($p= 0,033$; $F= 3,911$). Cependant, nous n'avons pas observé de différences significatives dans la deuxième session chez les deux groupes traités 0.5 mg/l et 14 mg/l par rapport à leurs témoins (**Figure 37**).

La durée dans les boîtes du dispositif



- La durée en contact des grilles des souris

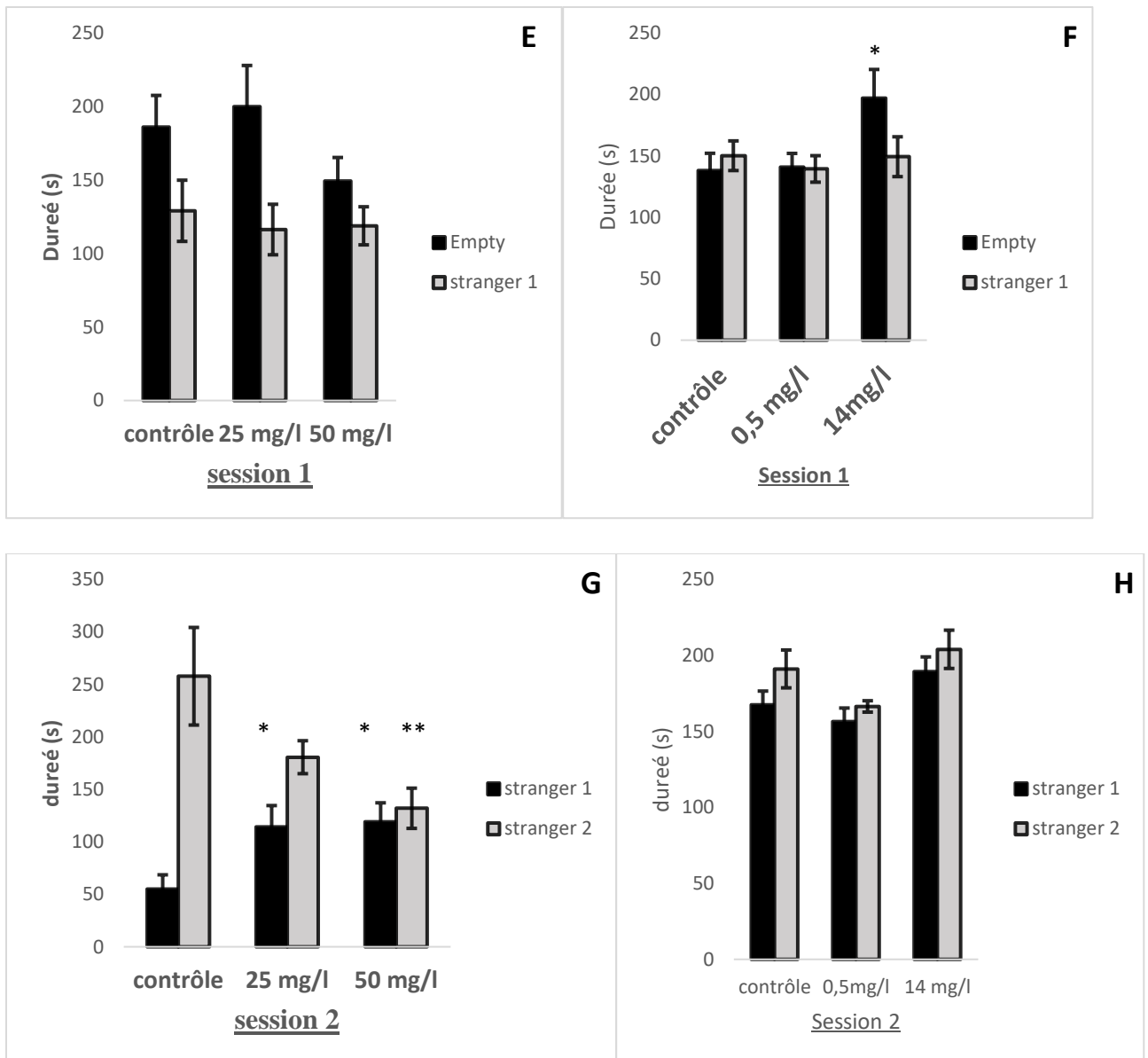


Figure 38: Comportement social des souris témoins et traitées par le Glyphosate dans le test de l'interaction sociale, (A, B) et (C, D) la durée dans les deux boîtes du dispositif (session 1 et 2), (E, F) et (G, H) la durée des souris en contact des deux grilles des souris étrangères (session 1 et 2). Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=12), 0.5mg/l (n=10),14mg/l (n=10),25mg/l (n=12) et 50mg/l (n=12). $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

XIV. Résultats des tests comportementaux à l'âge adulte

XIV.1.1 Test labyrinthe en Y (Y-Maze)

Dans ce test « labyrinthe en Y », nous avons évalué l'effet du Glyphosate sur l'alternance spontanée des souris. Nos résultats ont montré que le pourcentage d'alternance est significativement plus faible après une exposition chronique à 50 mg/l de Glyphosate par rapport aux témoins, mais aucune différence significative a été remarquée chez les souris traitées 0.5 mg/l, 14 mg/l et 25 mg/l. En plus, une diminution significative du nombre d'entrées dans les trois bras a été montrée chez les souris traitées 25 mg/l et 50 mg/l par rapport aux témoins. Cependant, nous n'avons pas observé de différence significative d'entrées dans les trois bras chez les souris traitées 0.5 mg/l et 14 mg/l par rapport aux témoins (**Figure 38**). Ces résultats pourraient être expliqués par une réduction de l'activité locomotrice et de la mémoire spatiale chez les souris.

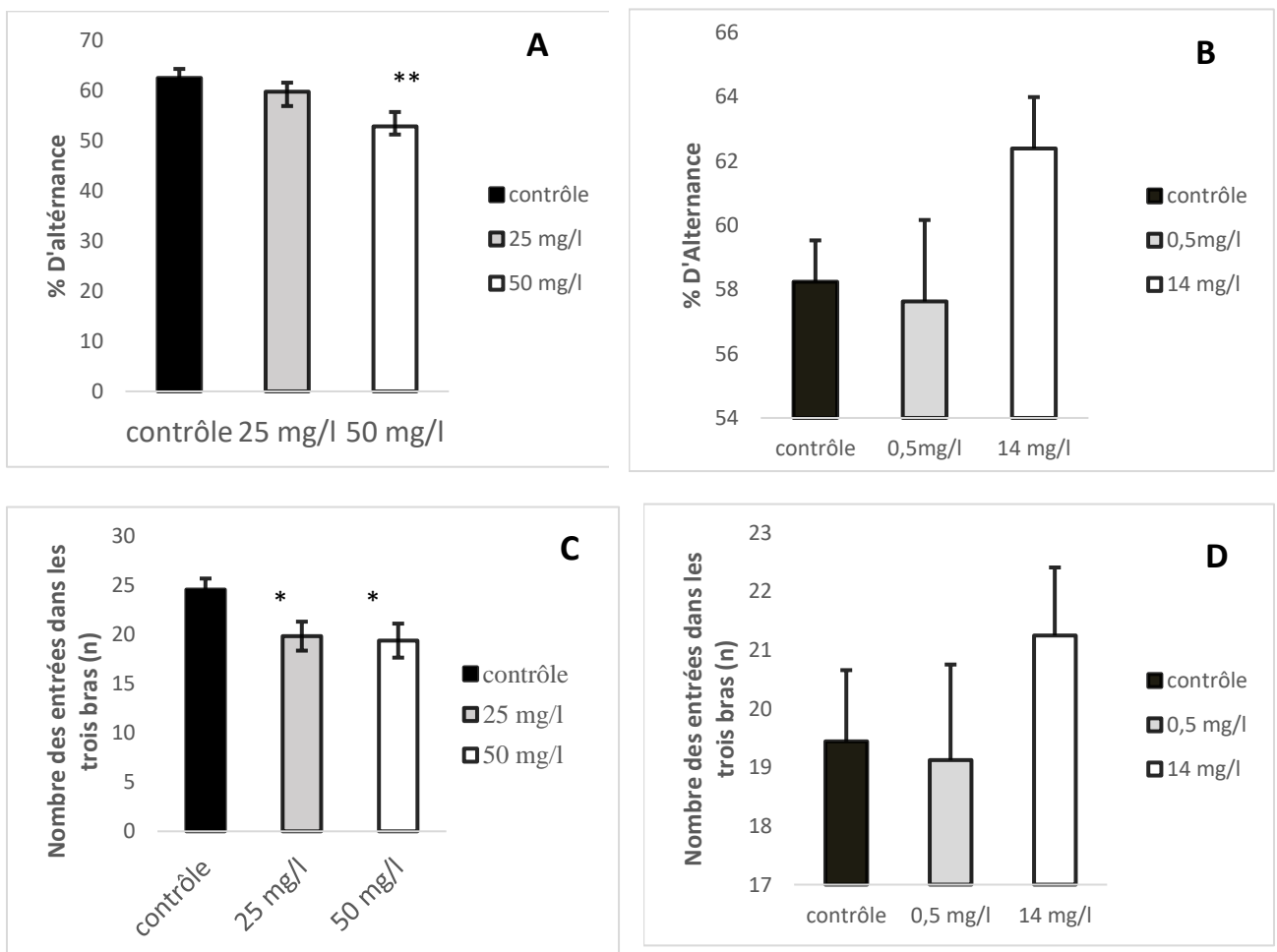
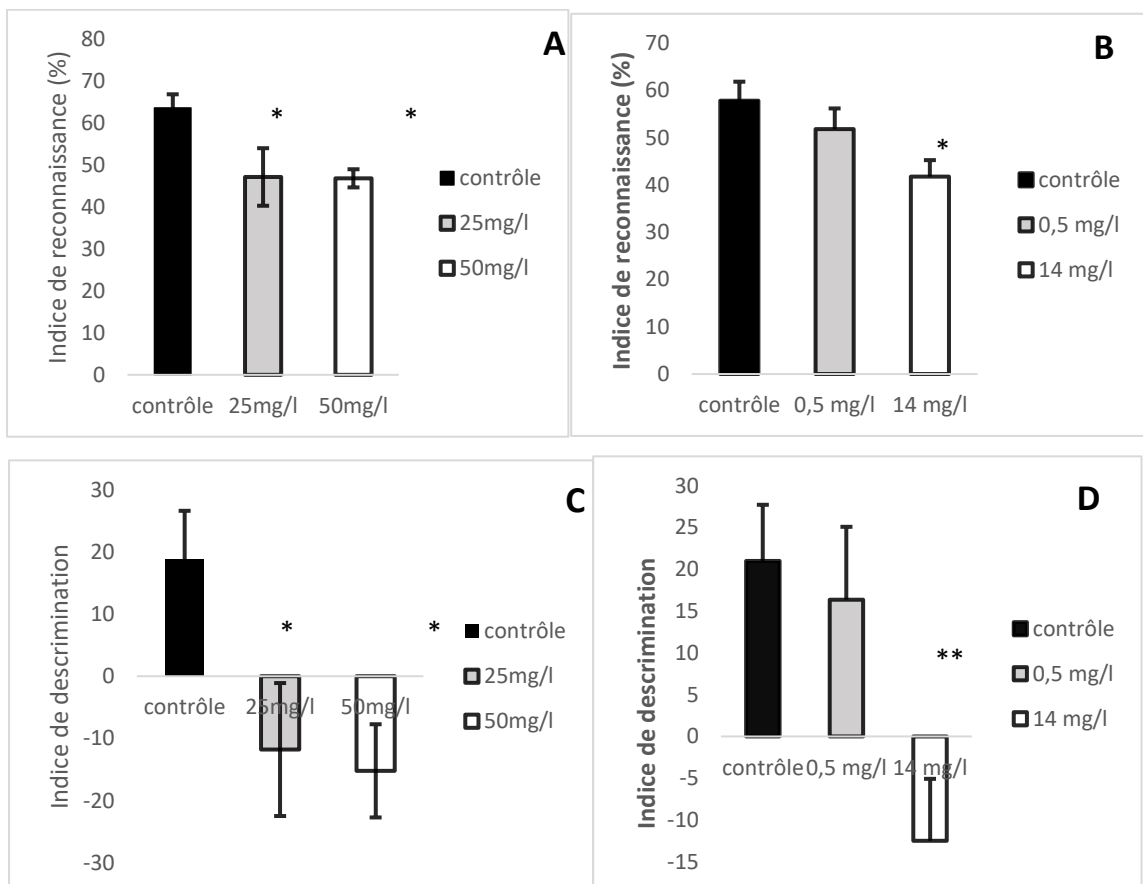


Figure 39: Evolution du pourcentage d'alternance (A et B) et le nombre des entrées dans les trois bras (C et D) obtenus par le test du labyrinthe en Y chez les souris mâles traités avec 0.5mg/l (n=10),14mg/l (n=10),25 mg/l (n=12) et 50 mg/l (n=12) de Glyphosate et chez les témoins (n=12). Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

XIV.1.2 Test de reconnaissance des objets

Les résultats de cette expérience ont montré que le Glyphosate a un effet significatif sur l'indice de reconnaissance ($p=0,007$, $f=4,351$), ($p=0,016$, $f=4,593$), ($p=0,012$, $f=4,593$) et de discrimination ($p=0,004$, $f=6.028$), ($p=0,037$, $f=3,654$), ($p=0,021$, $f=3,654$) respectivement chez les souris mâles traitées par des doses de 14 mg/l, 25 mg/l et 50mg/l par rapport aux témoins. De plus, une augmentation significative du temps d'exploration de l'objet A a été remarquée chez les souris males traitées par 50 mg/l ($p=0,009$, $f=6,591$) par rapport aux témoins. Aussi, une diminution significative du temps d'exploration de l'objet B a été révélée chez les souris males traitées par 14 mg/l ($p=0,009$, $f=6,591$) par rapport à leurs témoins (**Figure 39**).



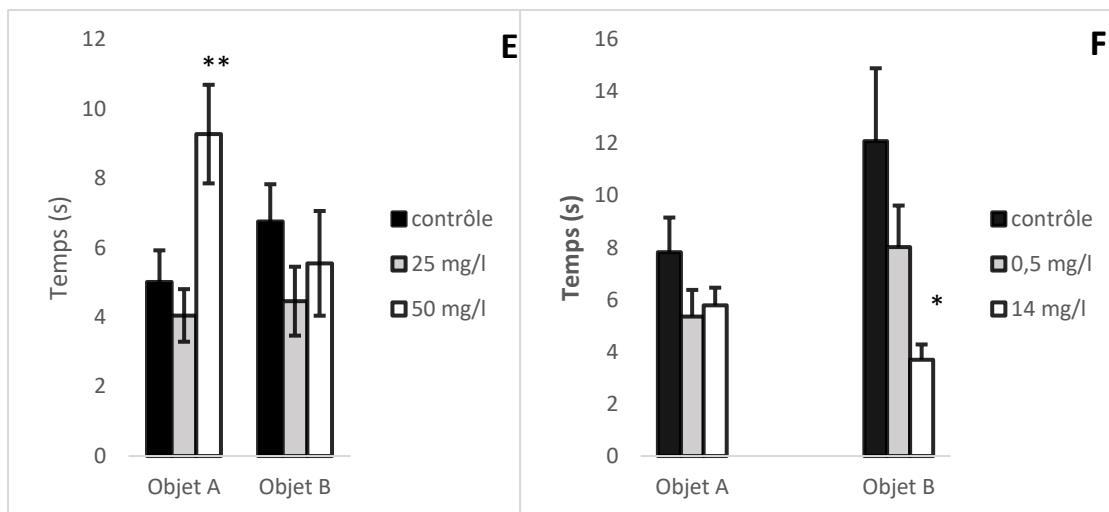
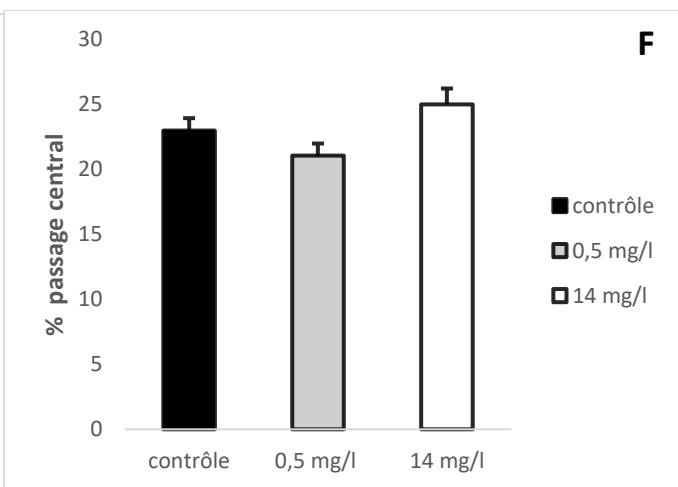
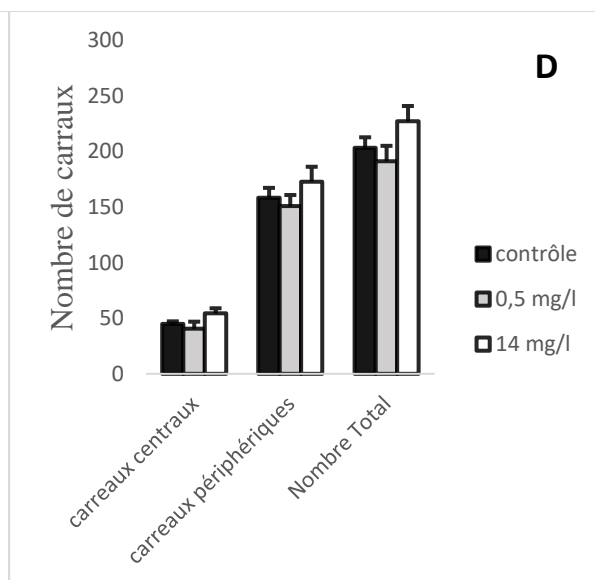
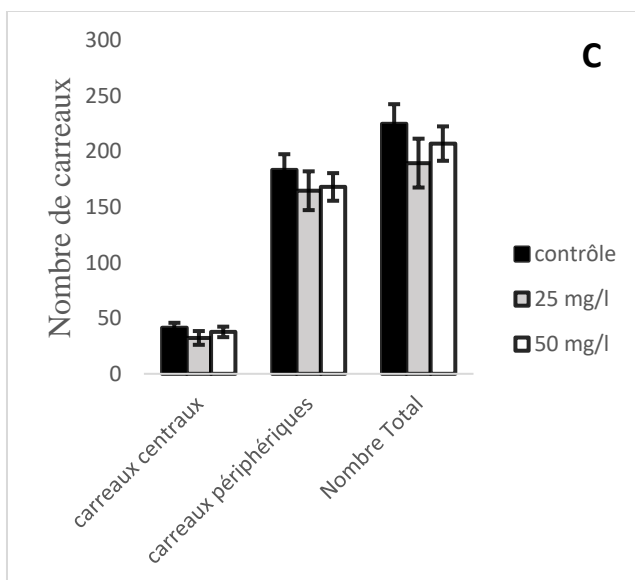
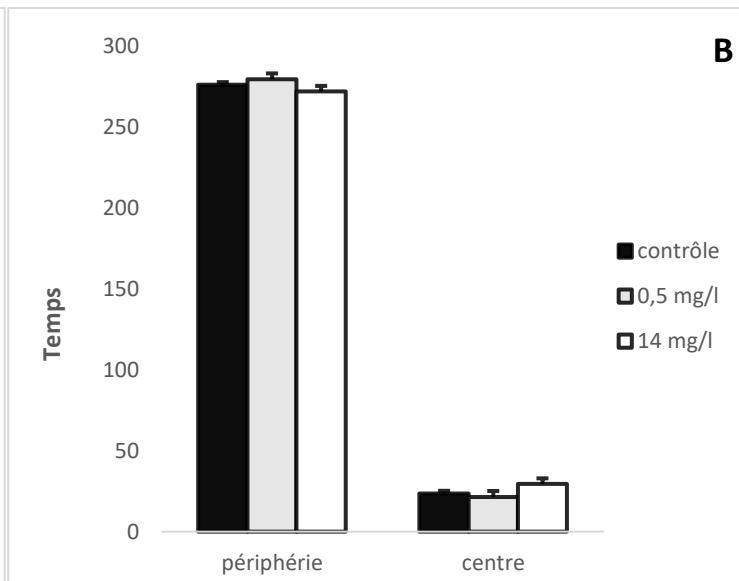
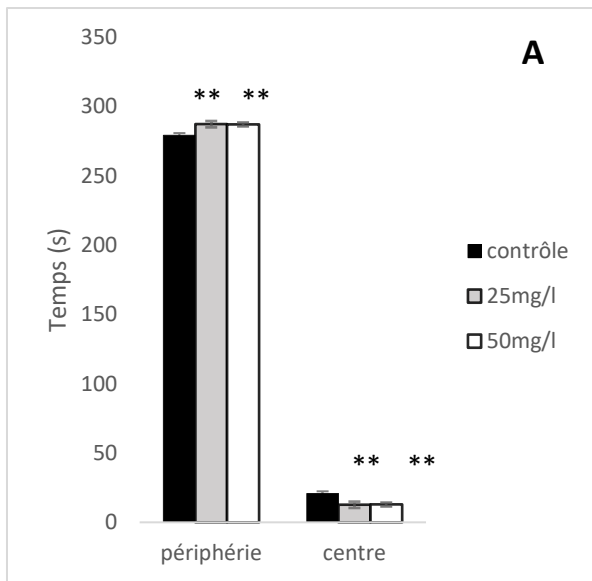


Figure 40: les résultats du test de reconnaissance d'objet des souris traitées par le Glyphosate et leurs témoins : (A et B) l'indice de reconnaissance, (C et D) l'indice de discrimination, (E et F) le temps passé près de chaque objet A et B. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=12), 0.5mg/l (n=10), 14mg/l (n=10), 25mg/l (n=12) et 50mg/l (n=12). $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

XIV.1.3 Test d'Open Field

L'analyse des résultats obtenus au niveau du test champ ouvert a montré un effet significatif du Glyphosate sur le temps passé à la périphérie du dispositif et celui passé au centre chez les deux groupes traités avec des doses de 25 mg/l et de 50 mg/l par rapport aux témoins. En effet, une augmentation du temps passé à la périphérie a été notée chez les souris adultes traitées ($p=0,003$, $f=6,921$), ($p=0,004$, $f=6,921$) à 25 mg/l et à 50 mg/l, ainsi qu'une diminution du temps passé au centre par rapport aux contrôles. Cependant, aucune différence du temps passé à la périphérie et au centre chez les souris traitées à des doses de 0.5 mg/l et de 14 mg/l par rapport aux témoins. Finalement, le nombre des carreaux, le grooming et le passage central ne présentent pas de différences significatives chez les groupes traités avec 0.5 mg/l, 14mg/l, 25mg/l et 50mg/l par rapport aux témoins (**Figure 40**).



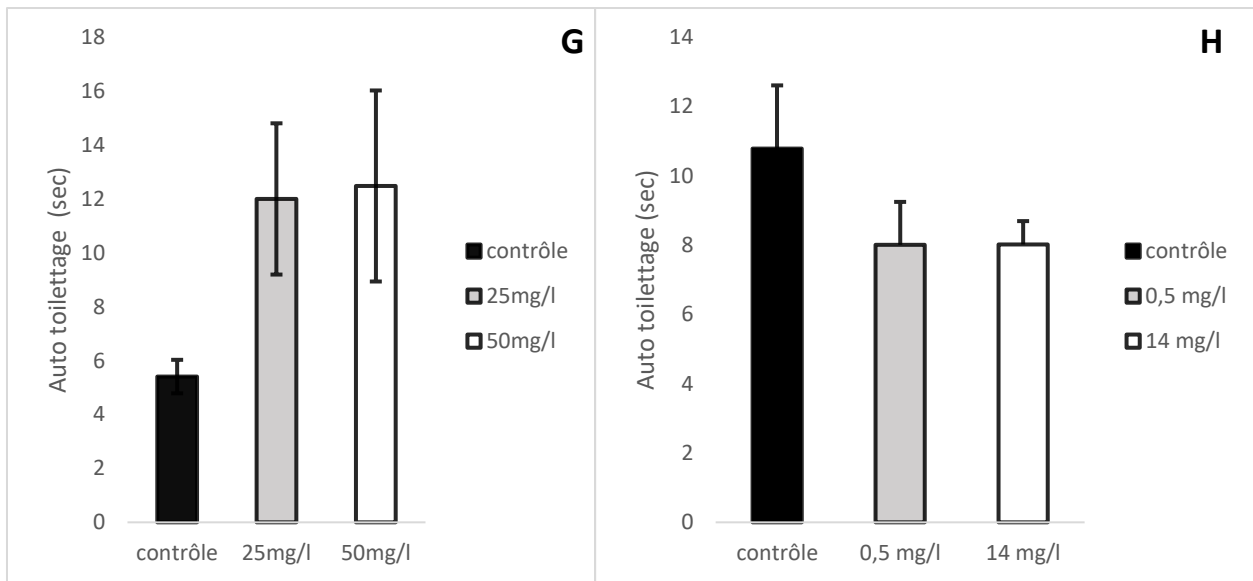
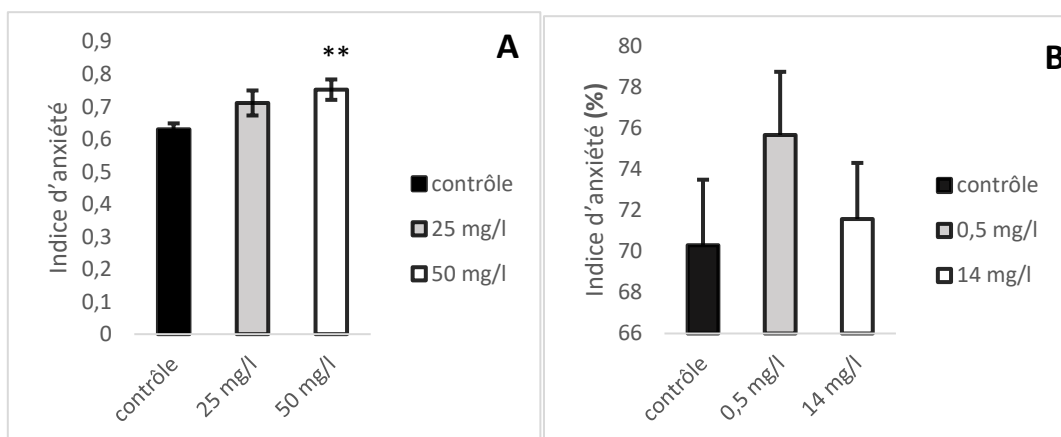


Figure 41: Résultats de l'effet du Glyphosate sur les paramètres du test "Open Field " : (A et B) : Temps passé à la périphérie et au centre, (G et H) : Auto toiletteage, (C et D) : Nombres des carreaux centraux, périphériques et des carreaux totaux et (E et F) : le passage central. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=12), 0.5mg/l (n=10),14mg/l (n=10),25mg/l (n=12) et 50mg/l (n=12). $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

XIV.1.4 Labyrinthe en croix surélevé (EPM)

Le test labyrinthe en croix surélevée a confirmé que le Glyphosate a un effet anxiogène sur des souris mâles adultes. En effet, L'analyse statistique des résultats de ce test a révélé un indice d'anxiété élevé ($p=0,008$, $f=4,387$) accompagné d'une diminution du pourcentage du temps dans les bras ouverts ($p=0,005$, $f=4,939$) chez les souris mâles traitées avec la dose de 50 mg/l par rapport aux témoins. Cependant, aucune différence significative n'a été mise en évidence pour le pourcentage des entrées dans les bras ouverts et l'indice d'anxiété chez les trois groupes traités avec 0.5mg/l, 14 mg/l et 25mg/l par rapport aux contrôles (**Figure 41**).



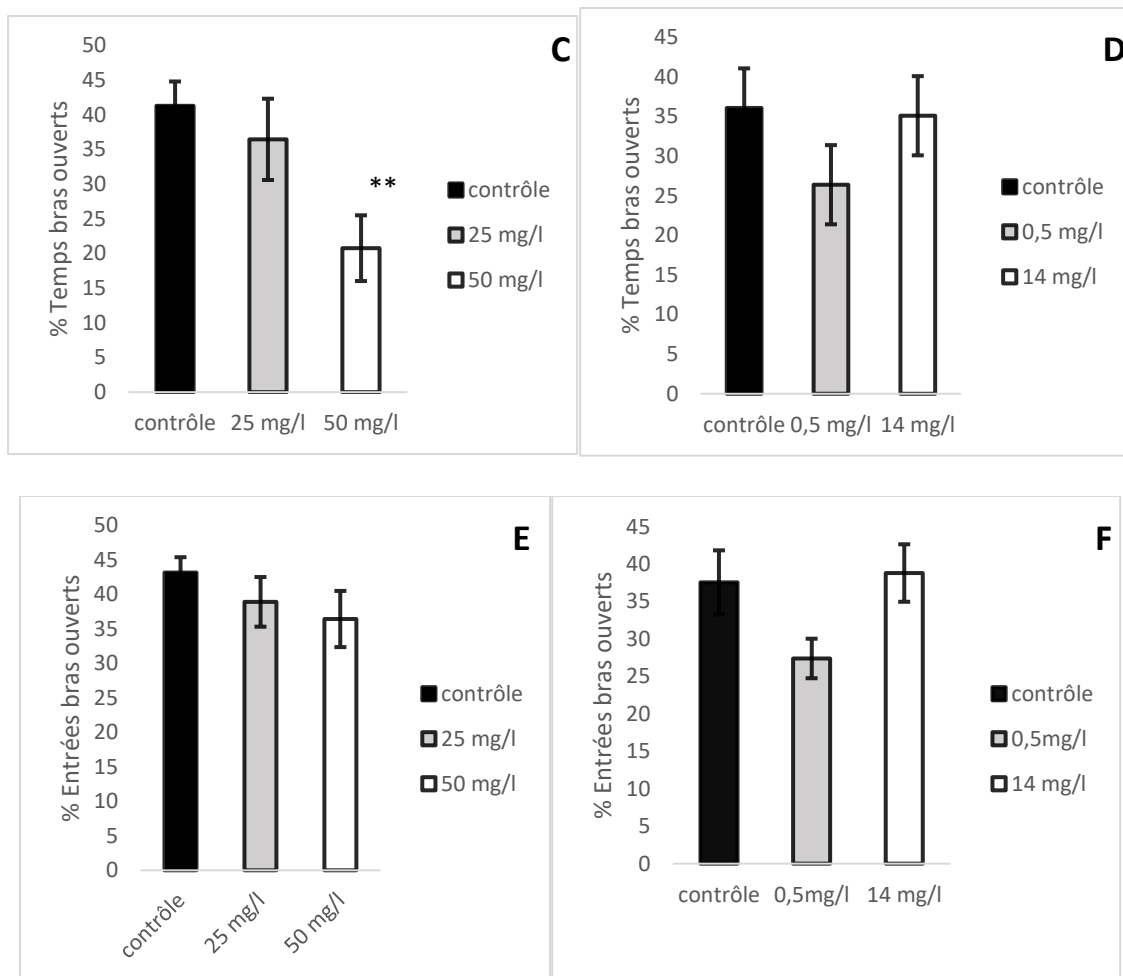


Figure 42: Résultats du test labyrinthe surélevé (EPM) : (A et B) : l'indice d'anxiété, (C et D) : le pourcentage du temps passé dans les bras ouverts, (E et F) : le pourcentage des entrées dans les bras ouverts chez les souris mâles traitées et témoins. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=12), 0.5mg/l (n=10), 14mg/l (n=10), 25mg/l (n=12) et 50mg/l (n=12). $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

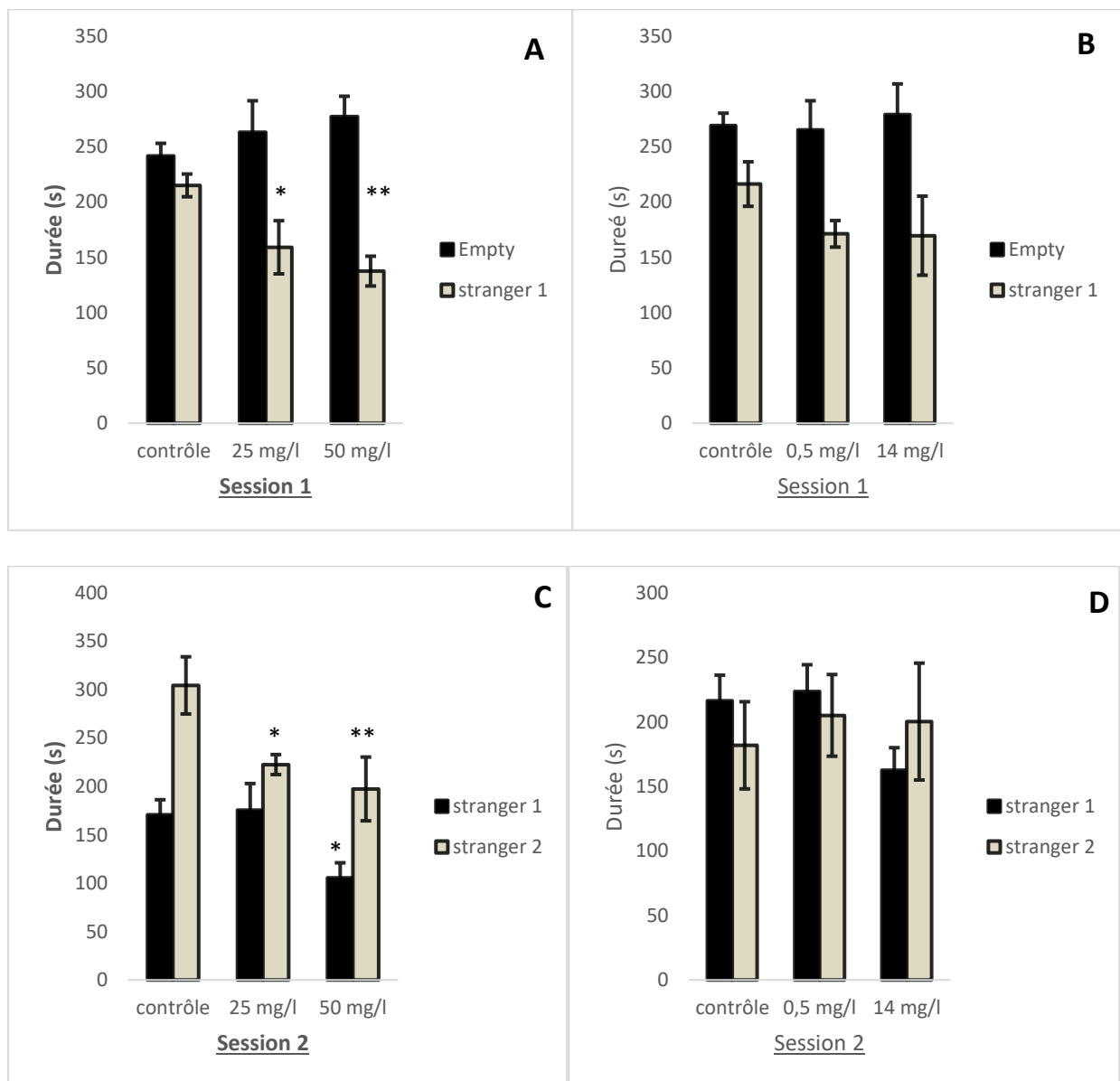
XIV.1.5 L'interaction sociale

La sociabilité des souris traitées par le Glyphosate a été évaluée en utilisant le système de test à trois chambres. Ce test montre que le Glyphosate a diminué la sociabilité des souris traitées 25 mg/l ($p=0,028$, $f=5,552$) et 50 mg/l ($p=0,004$, $f=5,552$) par la diminution du temps passé dans le box de la souris étrangère 1 par rapport aux témoins dans la première session. De plus, dans la deuxième session, les résultats ont montré une diminution significative du temps passé dans le box du souris étrangère 2 chez les deux groupes traités 25 mg/l ($p=0,046$, $f=4,194$) et 50 mg/l ($p=0,01$, $f=4,194$) par rapport aux témoins, ainsi qu'une diminution significative de

temps passé dans le box du souris étrangère 1 a été observé seulement chez le groupe traité 50 mg/l ($p=0,034$, $f=3,864$) par rapport au groupe témoin.

En outre, Nous avons évalué les effets du Glyphosate sur le temps en contact des grilles des souris. Les résultats obtenus dans la première session ont montré une diminution significative du temps en contact de grille de la souris étrangère 1 chez les deux groupes traités avec 25 mg/l et 50 mg/l par rapport au groupe contrôle, alors qu'il n'y a pas eu de différence significative dans la deuxième session. En plus, nous n'avons pas trouvé de différences significatives dans ce test « Interaction sociale » chez les souris traitées avec 0.5mg/l et 14 mg/l par rapport aux témoins (**Figure 42**).

La durée dans les boxs du dispositif



La durée en contact des grilles des souris

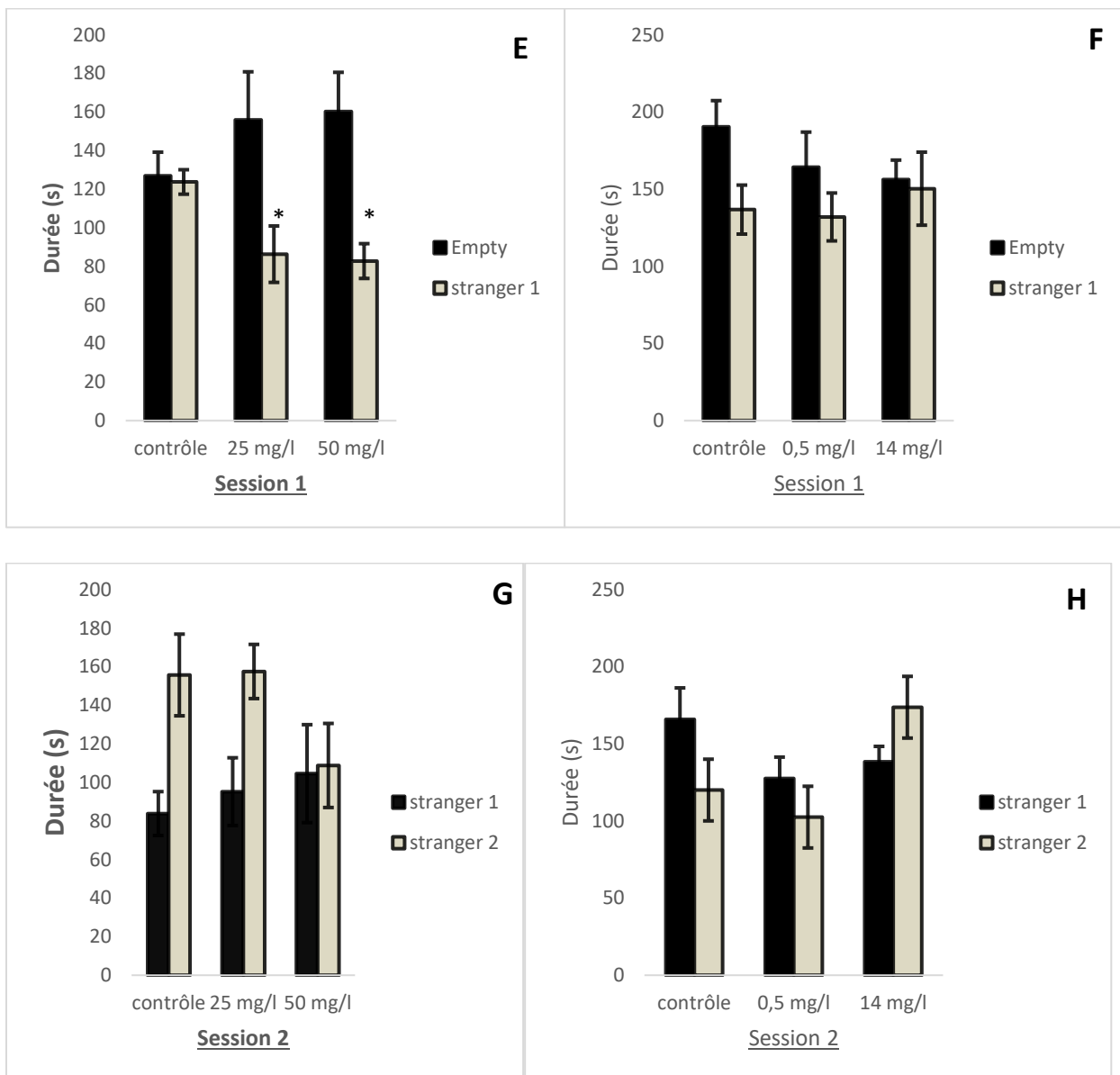


Figure 43: le comportement social des souriceaux témoins et traités par le Glyphosate dans le test de l'interaction sociale, (A, B) et (C, D) : la durée dans les deux box du dispositif (session 1 et 2), (E, F) et (G, H) : la durée des souris en contact des deux grilles des souris étrangères (session 1 et 2). Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=12), 0.5mg/l(n=10), 14mg/l(n=10), 25mg/l (n=12) et 50mg/l (n=12). $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

XV. Dosages

XV.1 Résultats du dosage de l'acétylcholinestérase chez les souriceaux

-Chez les souriceaux au jour PN5

Les structures analysées chez les souriceaux au jour postnatal 5 (PND5) sont le cervelet, le tronc cérébral et les hémisphères cérébraux. Nous avons constaté une augmentation significative ($p=0,004$, $f=10.746$) de l'activité de l'acétylcholinestérase dans la partie cervelet et le tronc cérébral chez les souriceaux traités par 50 mg/l de glyphosate par rapport aux témoins. Par contre, aucune différence significative n'a été démontrée chez les souriceaux traités par 25 mg/l. Dans les hémisphères cérébraux, nous avons montré une augmentation significative ($p=0,001$, $f=172.167$) de l'activité de l'acétylcholinestérase chez les souriceaux traités par 25 mg/l, et une diminution significative ($p=0,001$, $f=172.167$) chez les souriceaux traités à 50 mg/l par rapport aux témoins (**Figure 43**).

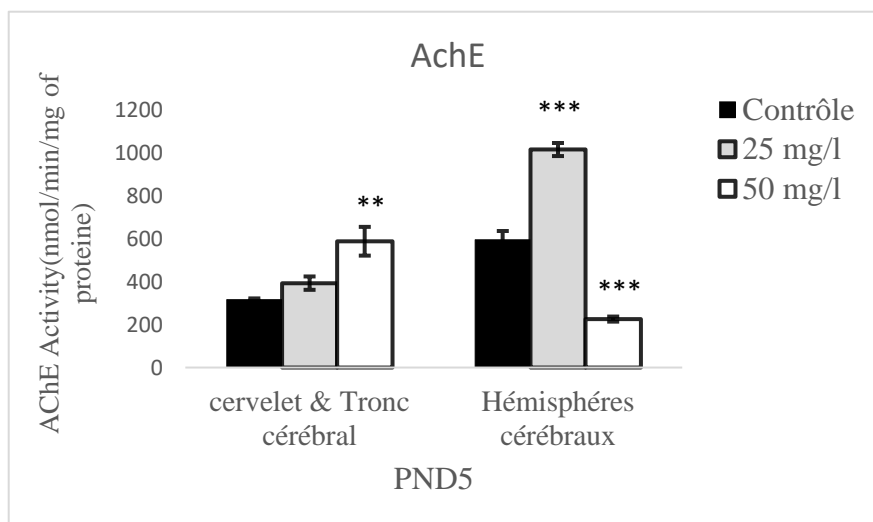


Figure 44: Evolution de l'activité acétylcholinestérasique chez les souriceaux traités et témoins au jour postnatale PN5. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins ($n=6$), 25mg/l ($n=6$) et 50mg/l ($n=6$). * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, (One Way ANOVA).

-Chez les souriceaux aux jours PN10, PN15 et PN21

Parmi les quatre structures analysées chez les souriceaux traités au glyphosate et les témoins correspondants, une diminution significative de l'activité de l'AchE est observée chez les souriceaux traités par 25 mg/l et par 50 mg/l au jour PN21 dans le cervelet ($p=0,035$, $f=36.126$) ($p=0,001$, $f=36.126$), dans le tronc cérébral ($p=0,023$, $f=5.347$), ($p=0,043$, $f=5.347$), dans hémisphère droit ($p=0,002$, $f=6.765$), ($p=0,033$, $f=6.567$) et dans hémisphère gauche ($p=0,042$,

f=5.498) ($p=0,021$, $f=5.498$). De plus, une diminution significative de l'AChE dans le tronc cérébral a été démontrée chez les souriceaux traités par 50 mg/l au jour PN10, pour le même jour postnatal (PN10) une diminution de cette activité est observée dans l'hémisphère gauche chez les deux groupes traités par 25 et 50 mg/l (**Figure 44**).

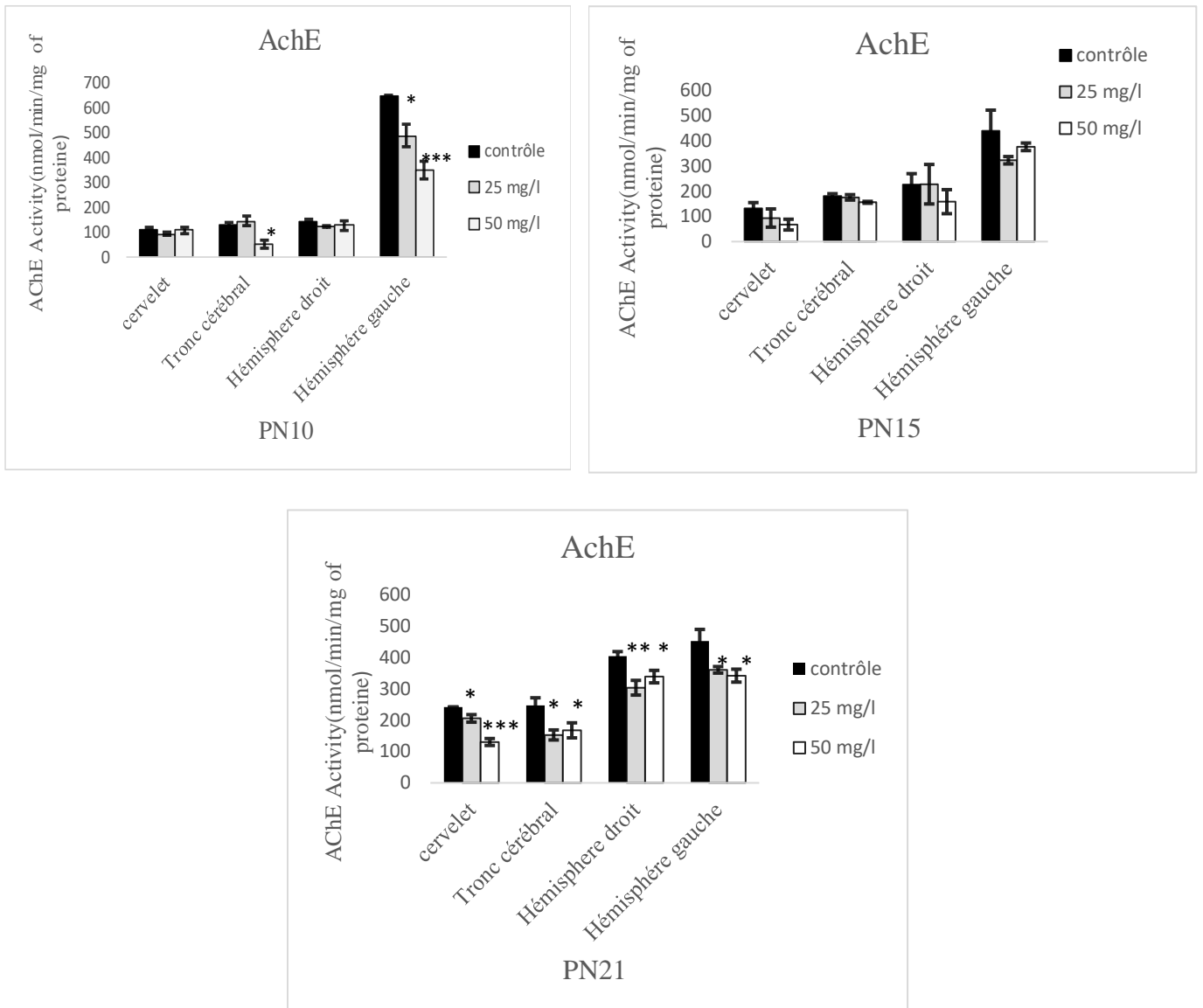


Figure 45 : l'évolution de l'activité acétylcholinestérasique dans les différentes structures cérébrales (cervelet, tronc cérébral, hémisphère droit et gauche) chez les souriceaux traités par le glyphosate et leurs témoins aux jours PN10, PN15 et PN21. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=6), 25mg/l (n=6) et 50mg/l (n=6). * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, (One Way ANOVA).

XVI. Résultats du dosage des marqueurs du stress oxydant

XVI.1 Dosage du stress oxydant au niveau cérébral, hépatique et rénal

XVI.1.1 Dosage de Malondialdéhyde (MDA)

-MDA Cérébrale Chez les souriceaux au jour PN5

La peroxydation lipidique est élevée dans les hémisphères cérébraux au jour PN5 chez les souriceaux traités par 50 mg/l du glyphosate par rapport aux témoins. Néanmoins, aucune différence significative n'a été constaté dans le cervelet et le tronc cérébral (**Figure 45**).

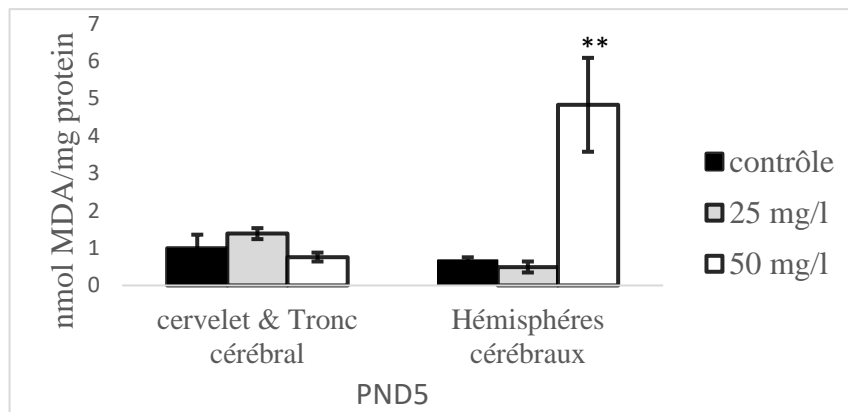


Figure 46: Variation du taux de MDA au niveau du cervelet/tronc cérébral et les hémisphères cérébraux des souriceaux traités par glyphosate et leurs témoins. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=6), 25mg/l (n=6) et 50mg/l (n=6) et 50mg/l (n=6). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

- MDA cérébral Chez les souriceaux aux jours postnataux PN10, PN15 et PN21

D'après les résultats obtenus, on observe une augmentation significative du taux de malondialdéhyde (MDA) au niveau du cervelet, du tronc cérébral et de l'hémisphère gauche au jour PN 21 chez les souriceaux recevant le glyphosate par rapport aux souriceaux témoins.

On enregistre aussi qu'au jour PN10 une différence significative du taux de MDA dans les structures cérébrales (tronc cérébral et hémisphère droit) chez les souriceaux traités par le glyphosate par rapport aux témoins.

On note également une augmentation significative du taux de MDA dans le cervelet au jour PN15 chez les souriceaux traités par 50 mg/l du glyphosate par rapport aux témoins (**Figure 46**).

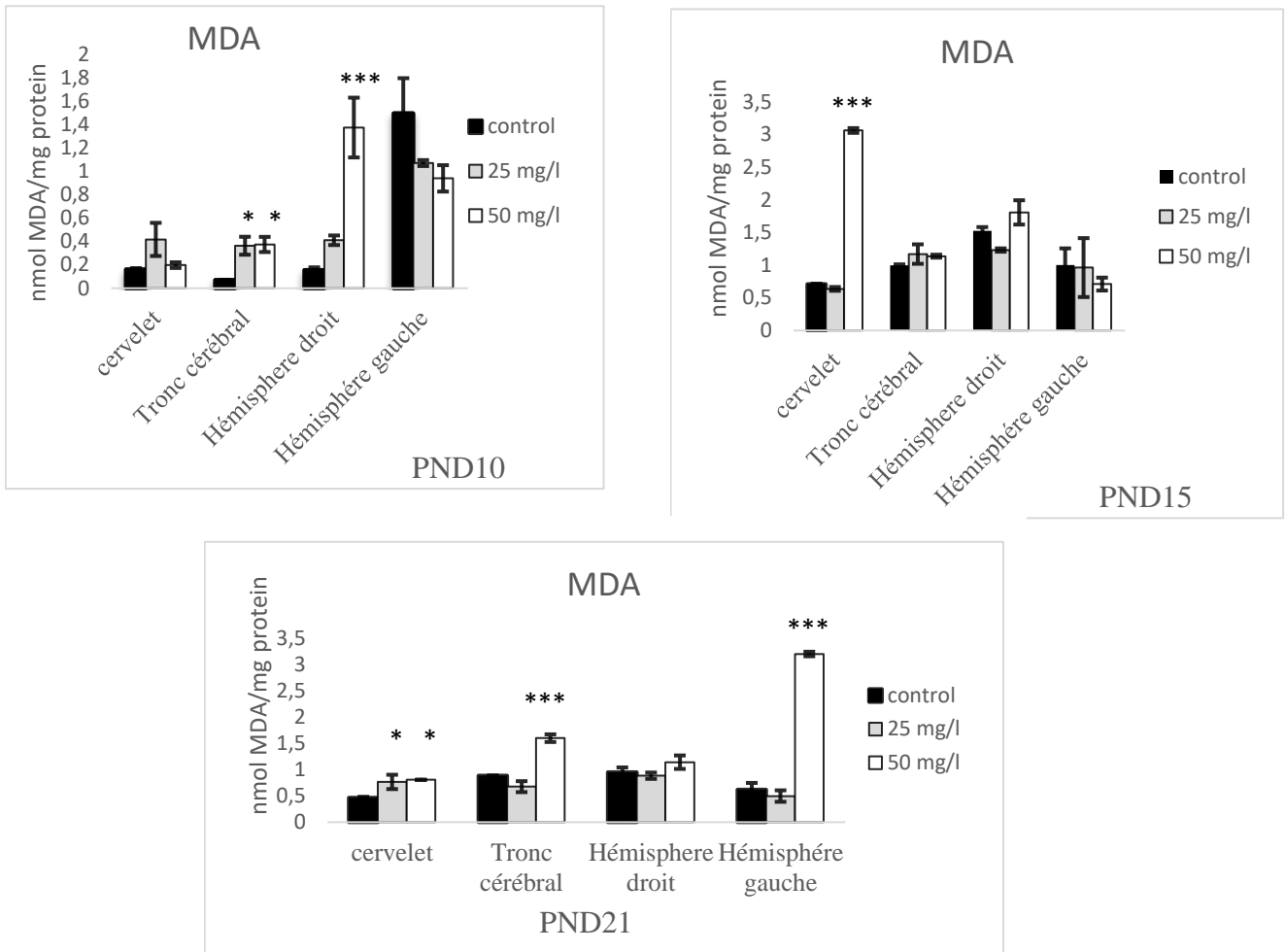


Figure 47: Variation du taux en malondialdéhyde (nmol/mg protéine) dans le cervelet, le tronc cérébral et hémisphère droit et gauche chez les souriceaux témoins et traités aux jours PN10, PN15 et PN21. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=6), 25mg/l (n=6) et 50mg/l (n=6). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

-MDA au niveau hépatique et rénal

Nos résultats révèlent que l'activité de la peroxydation lipidique hépatique et rénale augmente de façon significative aux jours PN15 et PN21 chez les souriceaux traités par 50 mg/l de glyphosate par rapport aux témoins (**figure 47**).

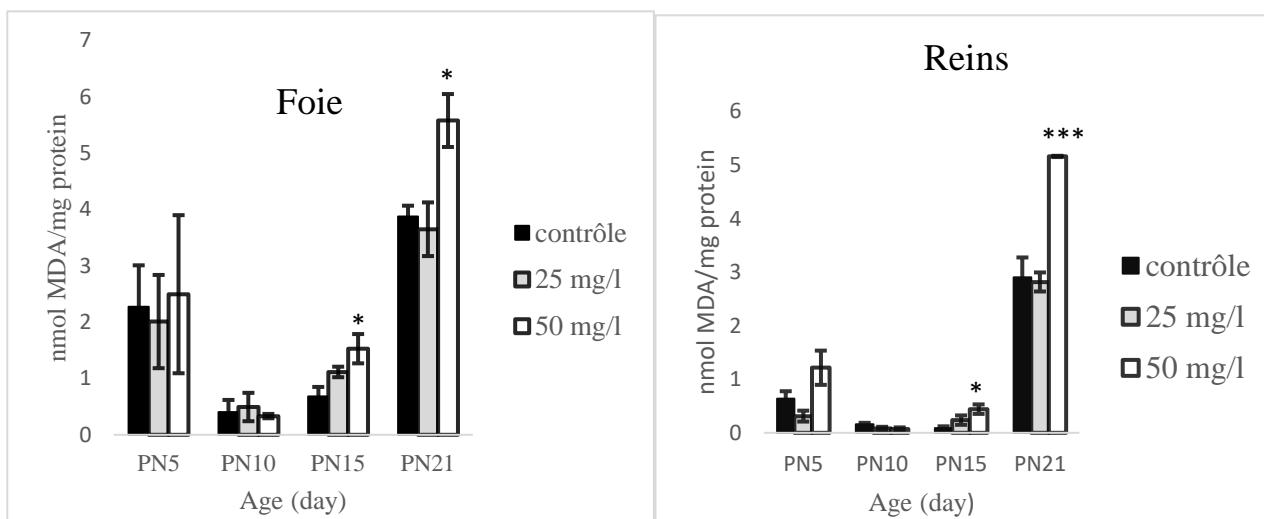


Figure 48 : Variation du taux en malondialdéhyde (nmol/mg protéine) dans le foie et les reins chez les souriceaux témoins et traités aux jours PN10, PN15 et PN21. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M. * ; témoins (n=6), 25mg/l (n=6) et 50mg/l (n=6). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

XVI.1.2 Dosage de la glutathion peroxydase (GPx)

-GPx Cérébrale Chez les souriceaux au jour PN5

Le traitement des souriceaux par 25 mg/l et 50 mg/l de glyphosate provoque une augmentation significative de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) (au jour PN5) dans le cervelet, le tronc cérébral ($p = 0,001$, $f = 928.307$) et les hémisphères cérébraux ($p = 0,001$, $f = 2907.442$) comparé aux souriceaux témoins (**figure 48**).

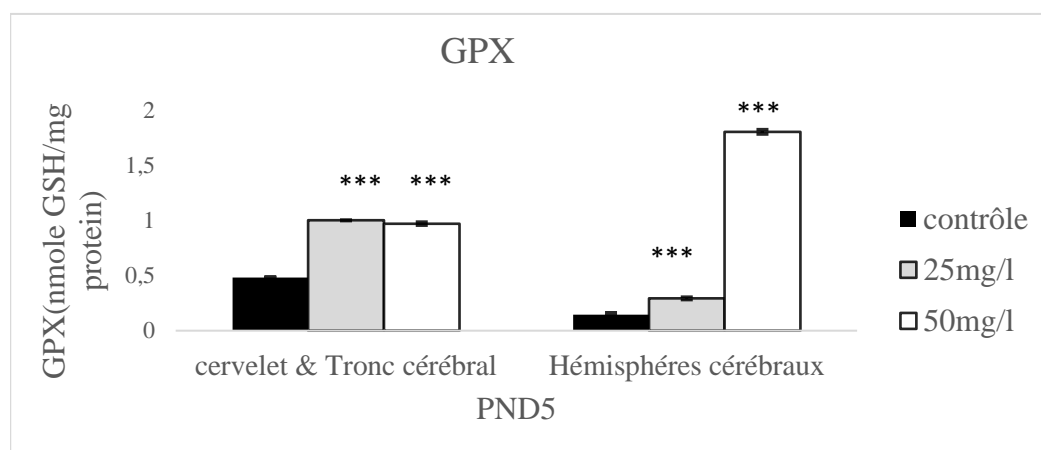


Figure 49 : Effet du glyphosate sur l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (nmol GSH/protéine) dans le cervelet/tronc cérébral et les hémisphères cérébraux chez les souriceaux témoins et traités au jour PN5. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M. * ; témoins (n=6), 25mg/l (n=6) et 50mg/l (n=6). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

témoins (n=6)), 25mg/l (n=6) et 50mg/l (n=6). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

- **GPx cérébrale Chez les souriceaux aux jours PN10, PN15 et PN21**

Chez les souriceaux traités par 25 mg/l et 50mg/l du glyphosate, on note une augmentation significative de la GPX au jour PN10 dans le cervelet ($p=0,013$, $f=26.5$) ; ($p=0,001$, $f=26.5$) et le tronc cérébral ($p=0,001$, $f=38.061$) ; ($p=0,001$, $f=38.061$). Par contre, une diminution significative de la GPX a été démontré dans l'hémisphère droit ($p=0,007$, $f=11.703$) ; ($p=0,005$, $f=11.703$) et hémisphère gauche au jour PN10 ($p=0,008$, $f=7.694$) (**figure 49**).

En revanche, on ne note pas de variations significatives de l'activité de la GPX dans le cervelet et l'hémisphère droit au jours PN15 et PN21. Mais, nous avons montré que l'activité de la GPX subit une augmentation significative au jour PN21 dans le tronc cérébral chez les souriceaux traités par 50 mg/l de glyphosate par rapport aux témoins (**figure 49**).

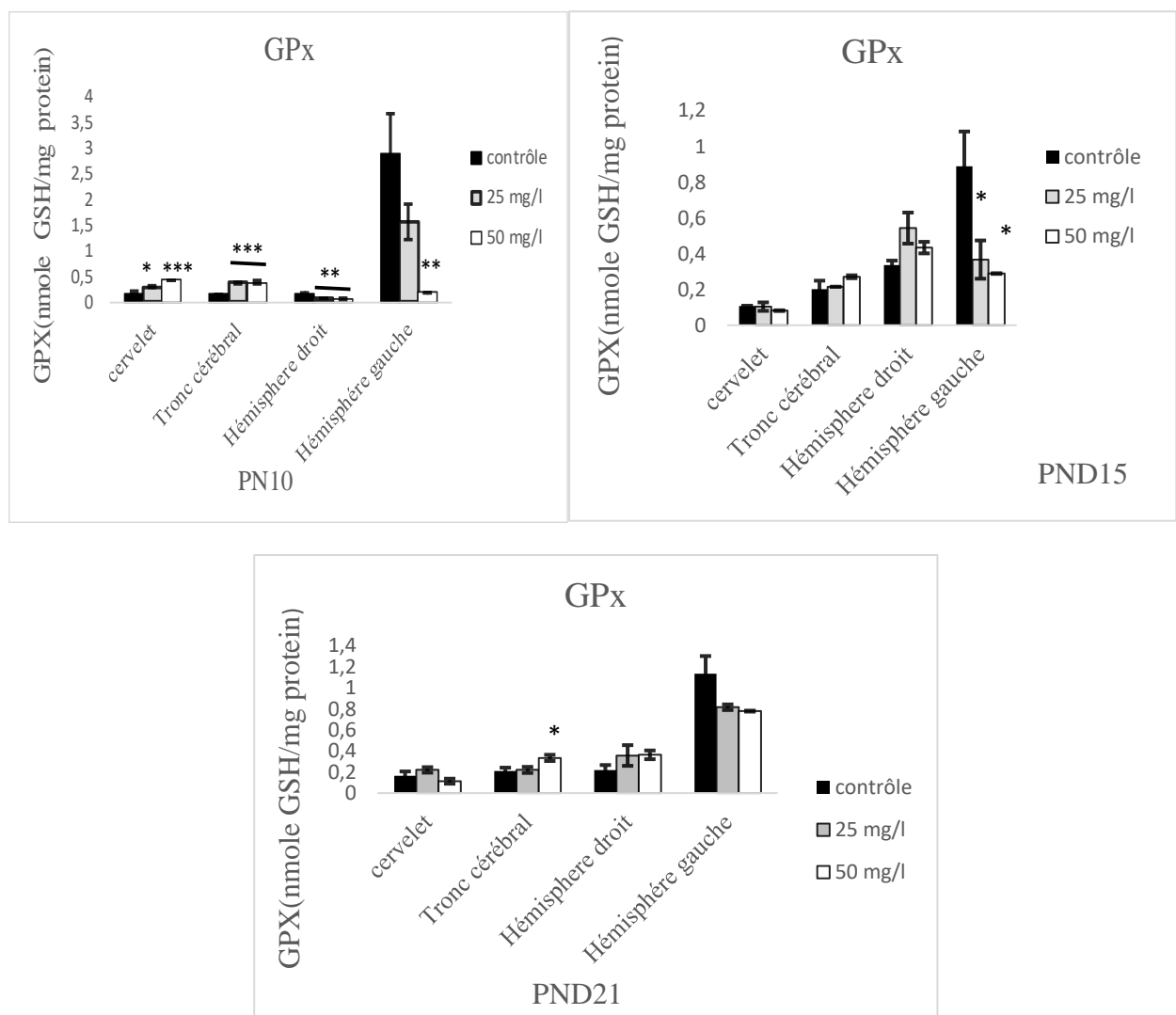


Figure 50 : Effet du glyphosate sur l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (nmol GSH/protéine). dans le cervelet/tronc cérébral et les hémisphères cérébraux chez les souriceaux témoins et traités au jour PN5. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=6), 25mg/l (n=6) et 50mg/l (n=6). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

- **GPX hépatique et rénale Chez les souriceaux aux jours PN5, PN10, PN15 et PN21**

Nos résultats (**figure 50**) révèlent que l'activité de la GPX hépatique varié de façon très hautement significative aux jours PN5 ($p=0,001$, $f=1045.43$) et PN10 ($p=0,001$, $f=556.459$) ; ($p=0,001$, $f=556.459$) chez les souriceaux traités par 25 mg/l et 50 mg/l de glyphosate par rapport aux témoins. En revanche, on constate une diminution significative de l'activité de la GPX du foie chez tous les souriceaux témoins par rapport aux traités (50mg/l du glyphosate) aux jours PN15 ($p=0,041$, $f=6.263$) et plutôt une augmentation significative au PN21 ($p=0,008$, $f=13.041$) (**Figure 50**).

On note une augmentation significative de l'activité de la GPX au jour PN5 dans les reins chez les souriceaux traités par 25 mg/l ($p=0,001$, $f=215.794$) et 50 mg/l ($p=0,001$, $f=215.794$) de glyphosate par rapport aux témoins. Cependant, on montre une diminution significative de l'activité de la GPX dans les reins au jour PN10 ($p=0,001$, $f=220.333$) ; ($p=0,001$, $f=220.333$) jusqu'au jour PN21 ($p=0,01$, $f=8.418$) chez les souriceaux traités 25mg/l et 50 mg/l par rapport aux témoins (**figure 50**).

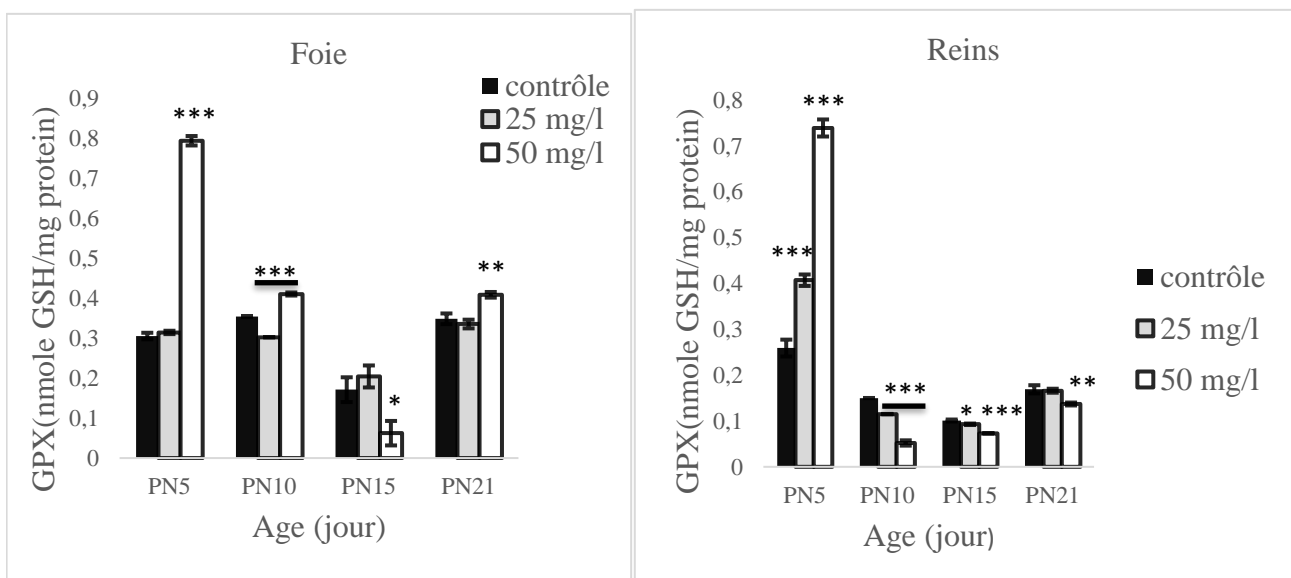


Figure 51 : Effet du glyphosate sur l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (nmol GSH/protéine) dans le foie et les reins chez les souriceaux témoins et traités au jours PN5, PN10, PN15 et PN21. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=6), 25mg/l (n=6) et 50mg/l (n=6). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

XVI.1.3 Dosage de la superoxyde dismutase (SOD)

- SOD Cérébrale Chez les souriceaux au jour PN5

L'exposition à des doses de 25 mg/l et de 50mg/l de glyphosate chez les souriceaux induit une augmentation significative de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase (SOD) dans le cervelet/tronc cérébral et l'hémisphère cérébral (surtout à la dose de 50mg/l) par rapport aux souriceaux témoins. Au jour postnatal PN5, une diminution de l'activité de la SOD a été observée chez les souriceaux traités par 25 mg/l par rapport aux témoins (**Figure 51**).

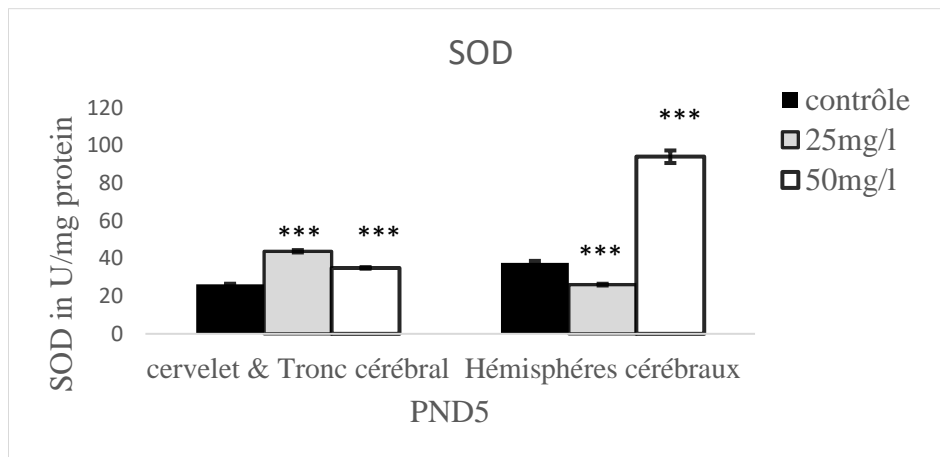


Figure 52 : Effet du glyphosate sur l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (nmol GSH/protéine) dans le foie et les reins chez les souriceaux témoins et traités au jours PN5, PN10, PN15 et PN21. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E. M.* ; témoins (n=6), 25mg/l (n=6) et 50mg/l (n=6). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

- SOD cérébrale Chez les souriceaux aux jours PN10, PN15 et PN21

Les résultats de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) déterminée chez les souriceaux aux jours PN10, PN15 et PN21 sont représentés dans **la figure (52)**.

L'activité de cette enzyme a montré une grande variation chez les souriceaux traités par 25 mg/l et 50 mg/l du glyphosate dans le cervelet aux jours PN10 ($p=0,001$, $f=271.897$) ; ($p=0,001$, $f=271.897$), PN15 ($p=0,001$, $f=21.286$) et PN21 ($p=0,001$, $f=138.693$) ; ($p=0,001$, $f=138.693$) par rapport aux témoins. En revanche, l'activité de la SOD est significativement

plus faible dans le tronc cérébral, l'hémisphère droit et l'hémisphère gauche chez les souris traitées par 25 mg/l et 50 mg/l de glyphosate aux jours PN10, PN15 et PN21 par rapport aux témoins (**Figure 52**).

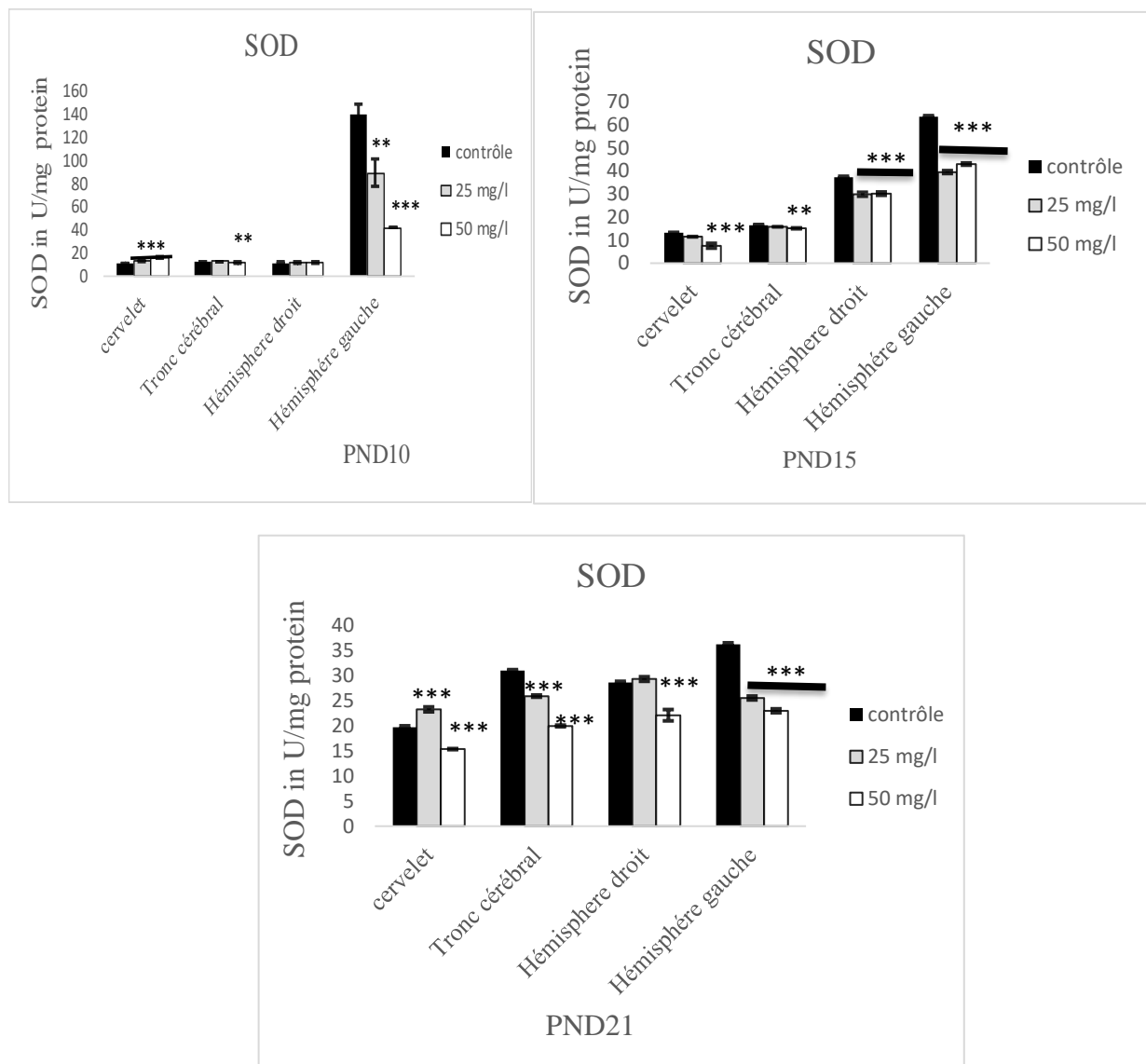


Figure 53 : Effet du glyphosate sur de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) dans le cervelet, le tronc cérébral et l'hémisphère droit et gauche chez les souris témoins et traités aux jours postnatals PN10, PN15 et PN21. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=6), 25mg/l (n=6) et 50mg/l (n=6). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

- **SOD hépatique et rénale Chez les souris aux jours PN5, PN10, PN15 et PN21.**

La variabilité de la réponse de l'activité de la SOD a été également observée aux jours PN5, PN10, PN15 et PN21 dans le foie et les reins chez les souris lors de leur exposition aux

doses de 25 mg/l et de 50 mg/l de glyphosate. En effet, la SOD augmente dans le foie au jour PN5 ($p=0,001$, $f=839.915$) ; ($p=0,001$, $f=839.915$) respectivement chez les souriceaux traités par 25 mg/l et 50 mg/l du glyphosate, et diminue dans les jours PN10($p=0,001$, $f=6.692$), PN15($p=0,001$, $f=32.28$) ; ($p=0,001$, $f=32.28$) et PN21($p=0,001$, $f=18.114$) (**Figure 53**). Nous avons montré une augmentation significative de l'activité de la SOD dans les reins aux jours postnataux PN5, PN10 et PN21 chez les souriceaux traités par 50mg/l par rapport aux témoins.

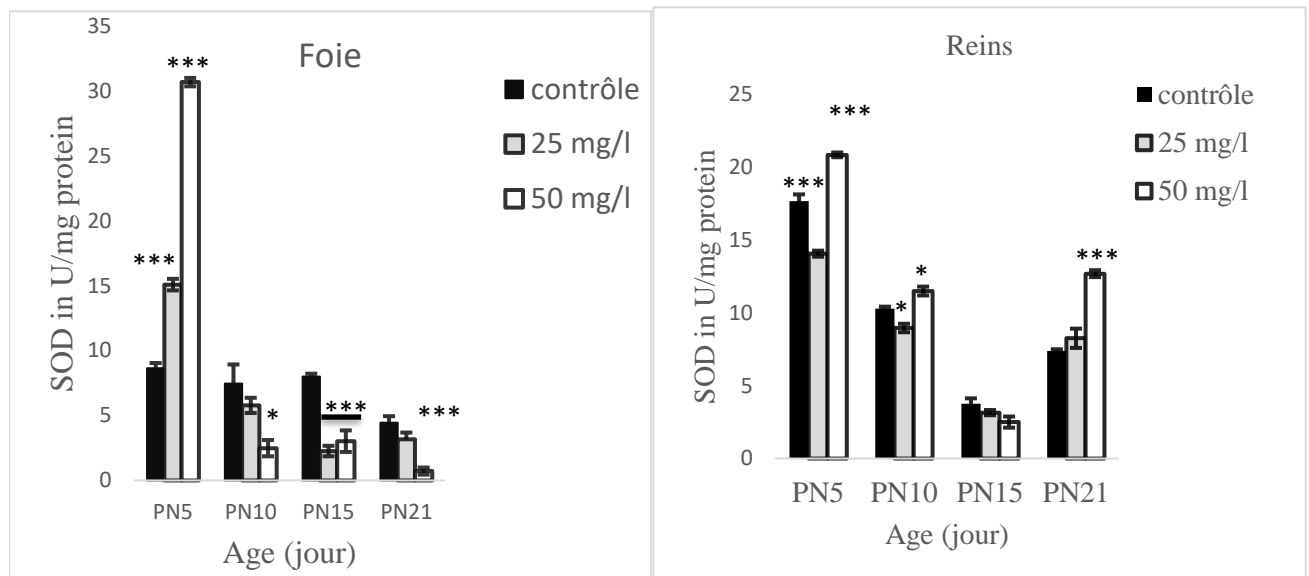


Figure 54 : Effet du glyphosate sur l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) dans le foie et les reins chez les souriceaux témoins et traités au jours PN5, PN10, PN15 et PN21. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=6), 25mg/l (n=6) et 50mg/l (n=6). * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, (One Way ANOVA).

XVI.1.4 Dosage de la catalase (CAT)

-CAT Cérébrale Chez les souriceaux au jour PN5

Nos résultats montrent une diminution de l'activité enzymatique de la catalase dans les hémisphères cérébraux ($p=0,048$, $f=8.225$) suite à l'exposition des souriceaux au glyphosate (25mg/l). Au contraire, aucune différence significative de cette activité n'a été démontrée dans le tronc cérébral/cervelet et les hémisphères cérébraux (50mg/l) (**Figure 54**).

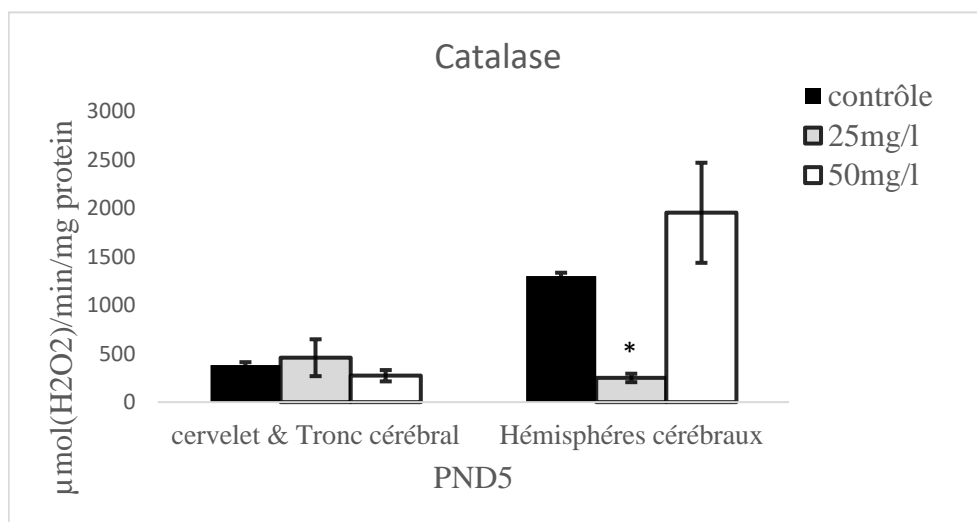


Figure 55 : Effet du glyphosate sur l'activité enzymatique de la catalase (CAT) dans le cervelet/tronc cérébral et les hémisphères cérébraux chez les souriceaux témoins et traités au jour PN5. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins ($n=6$), 25mg/l ($n=6$) et 50mg/l ($n=6$). * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, (One Way ANOVA).

- CAT cérébrale Chez les souriceaux aux PN10, PN15 et PN21

L'intoxication des souriceaux par le glyphosate a entraîné une augmentation significative de l'activité enzymatique de la catalase dans le cervelet ($p=0,004$, $f=12.875$) et le tronc cérébral ($p=0,019$, $f=13.786$) ; ($p=0,002$, $f=13.786$) au jour PN10 par rapport aux témoins. Alors que, le dosage de cette enzyme dans le cervelet et le tronc cérébral ne présente pas de différence significative entre les souriceaux traités et leurs témoins aux jours PN15 et PN21(**Figure 55**).

Tandis qu'on montre une diminution significative de l'activité de la catalase dans l'hémisphère gauche chez les souriceaux traités par 25mg/l et 50mg/l du glyphosate par rapport aux témoins dans les jours PN10 ($p=0,022$, $f=672.495$) ;($p=0,001$, $f=672.495$) ,PN15 ($p=0,035$, $f=7.7$) ;($p=0,009$, $f=7.7$) et PN21 ($p=0,012$, $f=11.346$) ; ($p=0,004$, $f=11.346$). Cependant, aucune différence significative de cette activité n'a été révélée dans l'hémisphère droit chez les souriceaux traités par

25mg/l et 50mg/l du glyphosate par rapport aux témoins dans les jours PN10, PN15 et PN21(**Figure 55**).

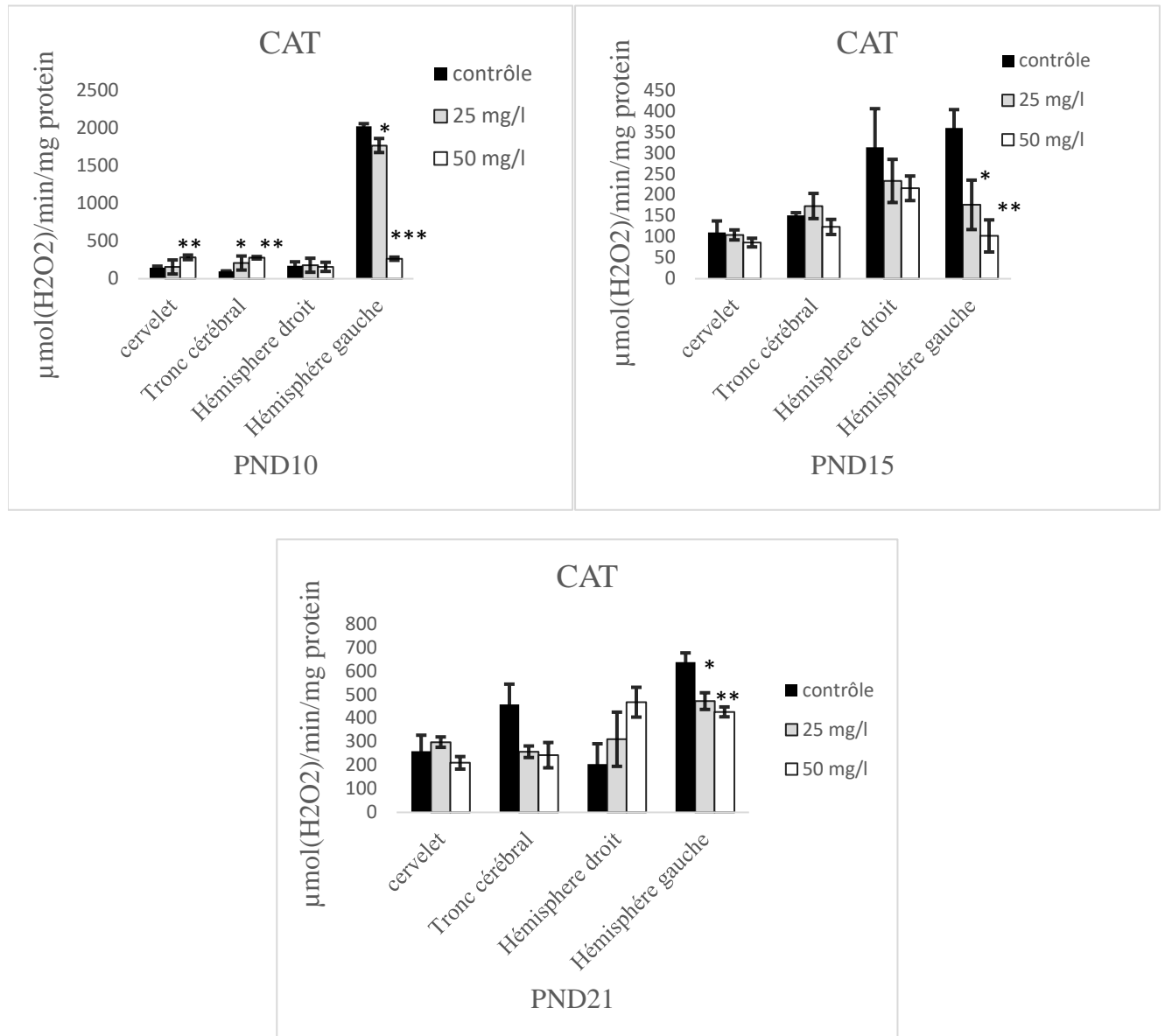


Figure 56 : Variation de l'activité enzymatique de la catalase dans le cervelet, le tronc cérébral et les hémisphères droit et gauche chez les souris témoins et traitées aux jours PN10, PN15 et PN21. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=6), 25mg/l (n=6) et 50mg/l (n=6). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

- **CAT hépatique et rénal Chez les souris aux jours PN5, PN10, PN15 et PN21**

Les résultats obtenus montrent que le traitement des souris par le glyphosate aux jours PN5 ($p=0,025$, $f=5.683$); ($p=0,028$, $f=5.683$), PN10 ($p=0,005$, $f=13.911$) et PN15 ($p=0,012$, $f=6.942$) provoque une diminution significative de l'activité enzymatique de la catalase (CAT) dans le foie par rapport aux souris témoins. A noter qu'il n'y a pas de différence

significative dans le foie chez les souriceaux traités par rapport aux témoins au jour PN21 (**Figure 56**).

Par ailleurs, une augmentation significative de la catalase a été observé dans les reins chez les souriceaux traités par 25 mg/l ($p=0,031$, $f=7.793$) et 50 mg/l ($p=0,009$, $f=7.793$) de glyphosate au jour PN5. Par contre, aucune variation significative a été démontrée chez les souriceaux traités dans les jours PN10, PN15 et PN21 par rapport aux témoins (**Figure 56**).

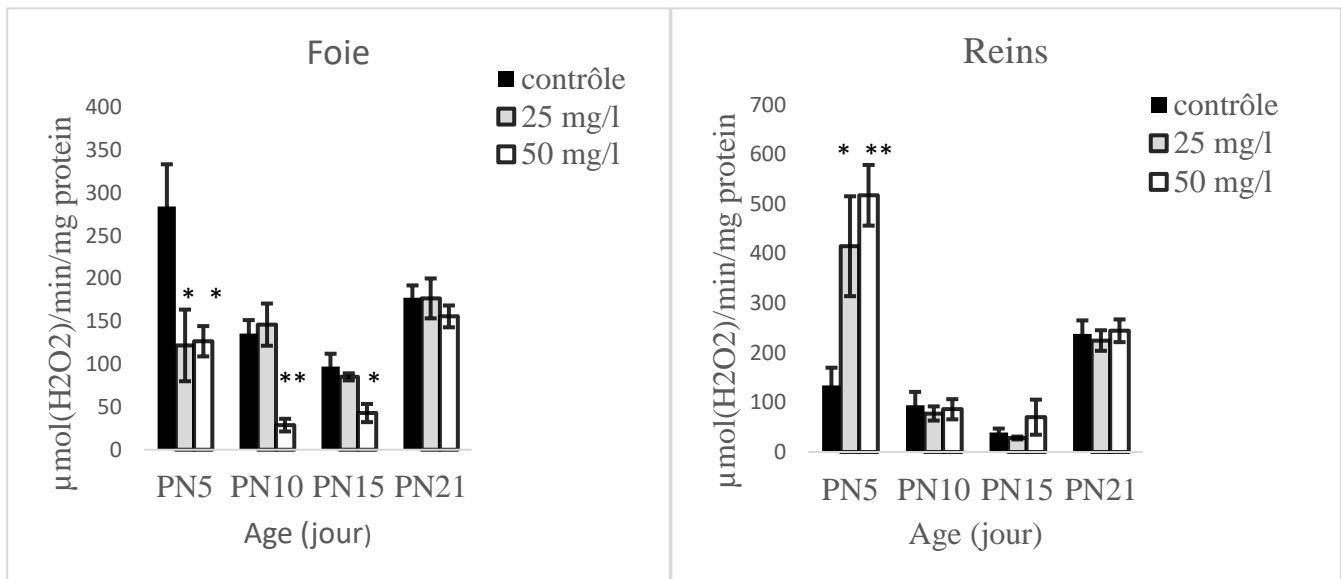


Figure 57 : Effet du glyphosate sur l'activité de la catalase (CAT) dans le foie et les reins chez les souriceaux témoins et traités au jours PN5, PN10, PN15 et PN21. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=6), 25mg/l (n=6) et 50mg/l (n=6). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

XVI.1.5 Dosage de l'activité de la glutathion S-transférase (GST)

-GST Cérébrale Chez les souriceaux au jour PN5

L'exposition prénatale et postnatale du 50 mg/l GLP montre une augmentation significative de la GST (PN5) dans les hémisphères cérébraux des souriceaux. Cependant, aucune différence significative n'a été observée dans le cervelet et le tronc cérébrale des souriceaux traités par 25 mg/l et 50mg/l de GLP par rapport aux témoins (**Figure 57**).

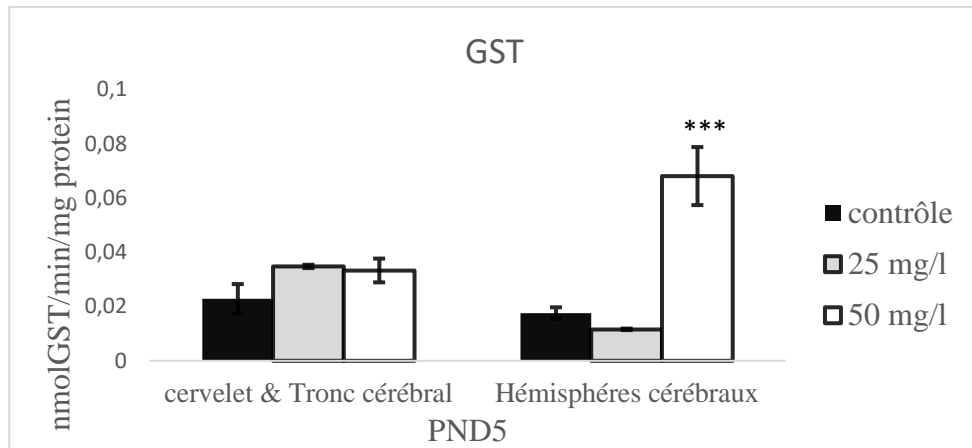
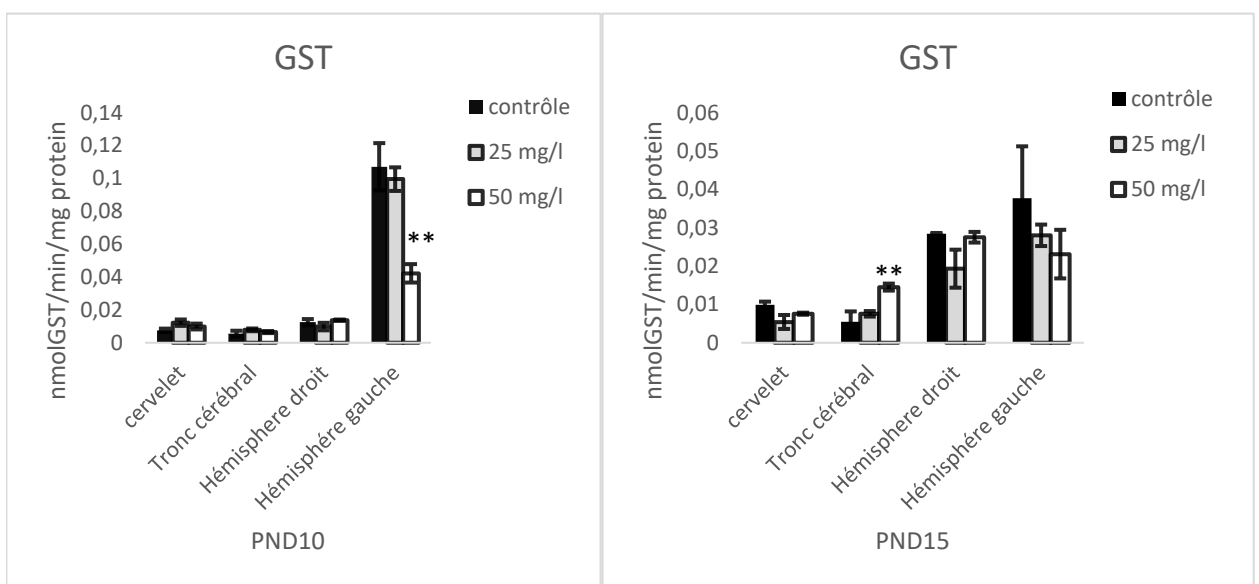


Figure 58 : Effet du glyphosate sur l'activité de la glutathion S-transférase (GST) dans le cervelet/tronc cérébral et les hémisphères cérébraux chez les souriceaux témoins et traités au jour PN5. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=6), 25mg/l (n=6) et 50mg/l (n=6). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

- **GST cérébrale Chez les souriceaux aux PN10, PN15 et PN21**

Les résultats de l'effet du GLP sur l'activité de la GST ont montré une diminution significative de cette enzyme dans l'hémisphère gauche au jour PN10 ($p=0,003$, $f=13.044$) chez les souriceaux traités et leurs témoins. Par contre, une augmentation significative de cette activité est observée dans le tronc cérébral au jour PN15 ($p=0,01$, $f=7.689$) et dans le cervelet au jour PN21 ($p=0,001$, $f=26.436$ et $p=0,03$, $f=26.436$) chez les souriceaux traités par rapport aux témoins (**Figure 58**).



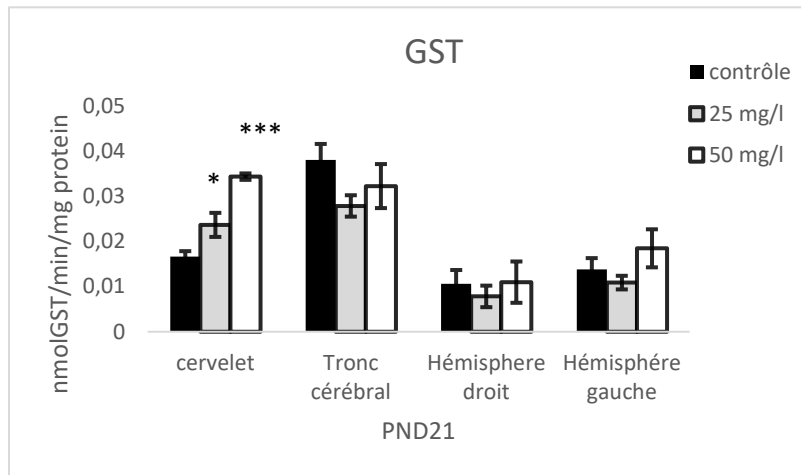


Figure 59 : Effet du glyphosate sur l'activité de la GPx dans le cervelet/tronc cérébral et les hémisphères cérébraux chez les souriceaux témoins et traités au jours PN10, PN15 et PN21. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=6), 25mg/l (n=6) et 50mg/l (n=6). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

- GST hépatique et rénal Chez les souriceaux aux jours PN5, PN10, PN15 et PN21

L'exposition prénatale et postnatale du GLP montre variation significative de la GST (PN21) dans le foie des souriceaux (**Figure 59**). Cependant, aucune différence significative n'a été observée dans les reins des souriceaux traités par 25 mg/l et 50mg/l de GLP par rapport aux témoins.

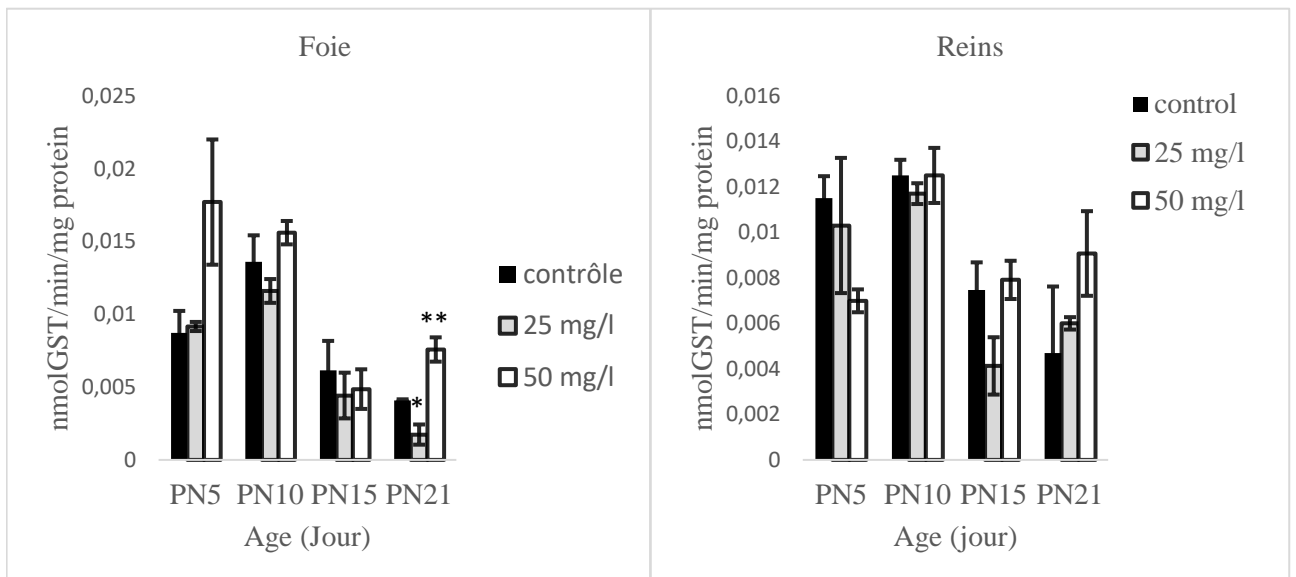


Figure 60 : Effet du glyphosate sur l'activité de la GPx dans le foie et les reins chez les souriceaux témoins et traités au jours PN5, PN10, PN15 et PN21. Les résultats sont présentés

comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=6), 25mg/l (n=6) et 50mg/l (n=6). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

XVI.2 Résultats du dosage de l'acétylcholinestérase chez les souris adultes

Parmi les structures analysées chez les souris traitées au GLP et les contrôles correspondants, une diminution significative de l'AChE est observée dans l'hippocampe ($p=0,023$, $f=7.4$), le pont ($p=0,029$, $f=16,418$) et le cervelet ($p=0,028$, $f=6.189$ et $p=0,019$, $f=6.189$) (**Figure 60**). Par contre, l'analyse statistiques des données a révélé que l'inhibition n'est pas significative dans l'hypothalamus, mésencéphale, le bulbe olfactif et rachidien chez les souris traitées par GLP et leurs témoins.

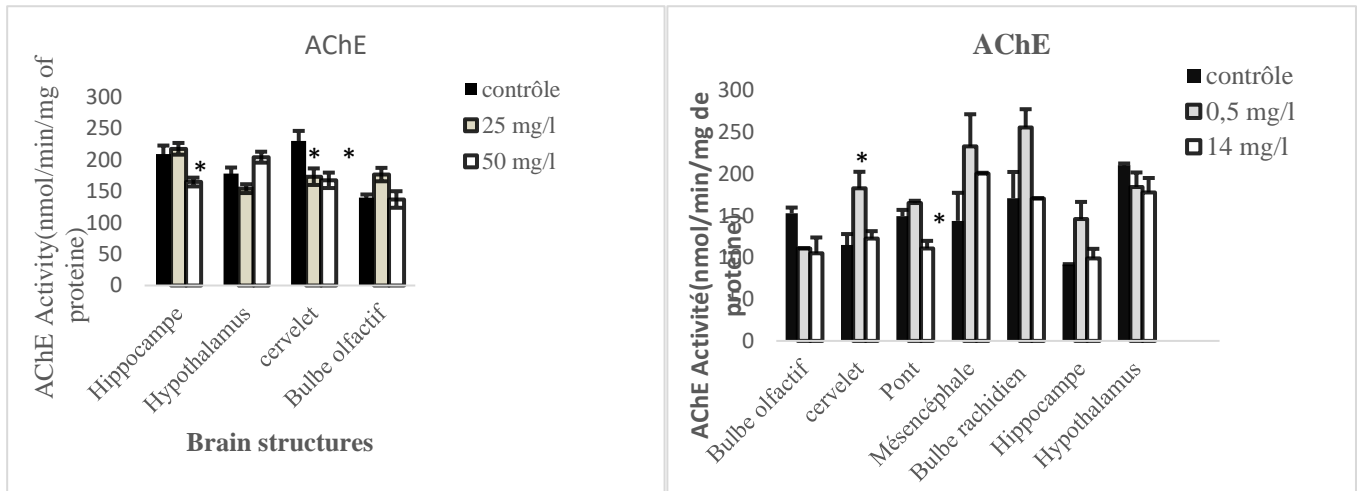


Figure 61 : l'évolution de l'activité acétylcholinestérase dans les différentes structures cérébrales (Bulbe olfactif, Hypothalamus, Mésencéphale, Pont, Cervelet, Bulbe rachidien et Hippocampe) chez les souris traitées par le GLP et leurs témoins. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins ($n=7$), 0.5mg/l ($n=7$), 14mg/l ($n=7$), 25mg/l ($n=7$) et 50mg/l ($n=7$). * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, (One Way ANOVA).

XVII. Résultats du dosage des marqueurs du stress oxydant chez les souris adultes

XVII.1.1 Dosage de Malondialdéhyde (MDA)

-MDA Cérébrale Chez les souris adultes

Pour estimer la peroxydation lipidique cérébrale, le taux de MDA est mesuré au niveau des structures cérébrales, bulbe olfactif, hypothalamus, mésencéphale, pont, cervelet, bulbe rachidien et hippocampe des souris traitées avec les différentes doses du GLP et leurs témoins correspondants (**figure 61**). Nous avons montré que le taux de MDA est significativement élevé chez les souris traitées au niveau de l'hippocampe ($p=0,02$, $f=6.751$ et $p=0,024$, $f=6.751$), l'hypothalamus ($p=0,013$, $f=96,835$ et $p=0,001$, $f=96.835$) et le pont ($p=0,003$, $f=13,104$) par rapport aux souris témoins.

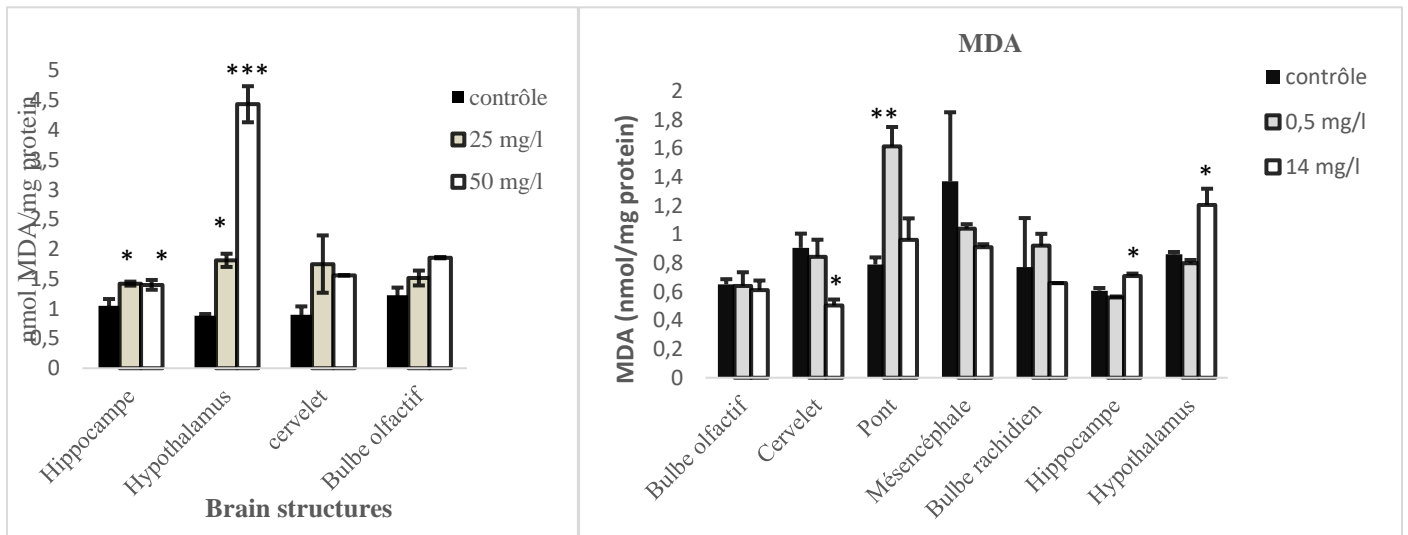


Figure 62 : Variation du taux de MDA au niveau des structures cérébrales (Bulbe olfactif, Hypothalamus, Mésencéphale, Pont, Cervelet, Bulbe rachidien et Hippocampe) des souris témoins et traitées au GLP. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=7), 0.5mg/l (n=7), 14mg/l (n=7), 25mg/l (n=7) et 50mg/l (n=7). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

- MDA hépatique, rénal et les testicules chez les souris adultes.

Nos résultats montrent que l'exposition au GLP a augmenté significativement le taux de MDA rénal, hépatique et au niveau des testicules chez les souris traitées avec 25 mg/l et 50mg/l par rapport aux témoins alors qu'il n'a pas d'effet sur le taux de MDA rénal chez les souris traitées avec des faibles doses (0.5mg/l et 14 mg/l), d'autre part ce dosage a montré une différences significatives du taux de MDA au niveau des glandes sexuelles males (testicules) chez les souris traitées avec 0.5 mg/l et 14 mg/l par rapport aux témoins (**figure 62**).

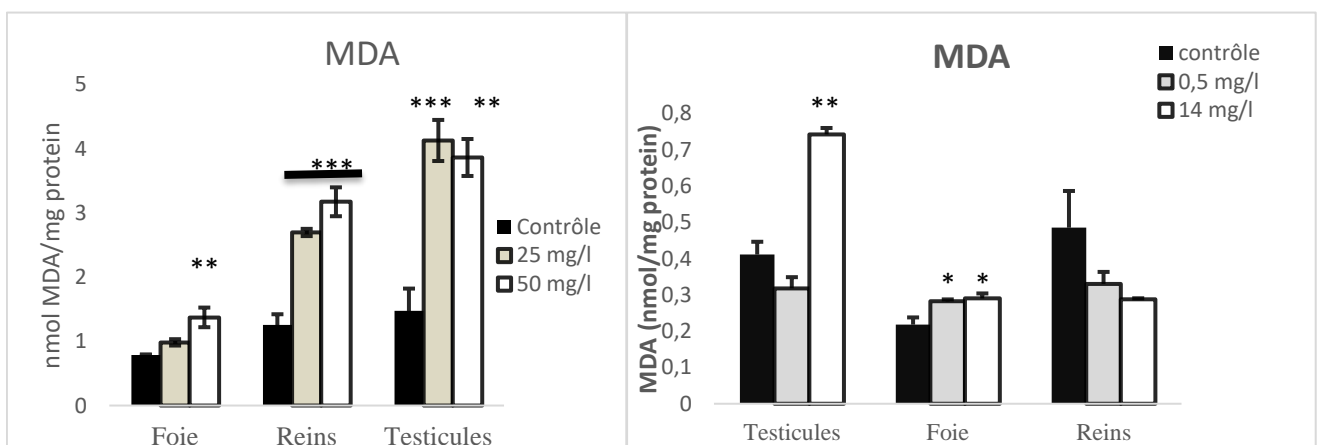


Figure 63 : Variation du taux de MDA hépatique, rénal et des testicules chez les souris traitées au GLP et leurs témoins. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=7), 0.5mg/l (n=7), 14mg/l (n=7), 25mg/l (n=7) et 50mg/l (n=7). * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, (One Way ANOVA).

XVII.1.2 Dosage de la glutathion peroxydase (GPx)

- GPx cérébrale Chez les souris adultes

L'activité de la glutathion peroxydase (GPx) est inhibée sous l'effet de GLP dans certaines structures cérébrales analysées. Les diminutions les plus importantes sont observées au niveau du cervelet ($p=0,027$, $f=11.373$ et $p=0,003$, $f=11.373$) et le bulbe olfactif ($p=0,008$, $f=8.702$ et $p=0,019$, $f=8.702$) chez les souris traitées par 25 mg/l et 50mg/l du GLP par rapport aux témoins, alors que certaines structures notamment l'hypothalamus ($p=0,02$, $f=6.649$) et le bulbe olfactif ($p=0,013$, $f=6.247$) ont montré une augmentation significative chez les souris traitées par 14 mg/l du GLP par rapport aux témoins (**figure 63**).

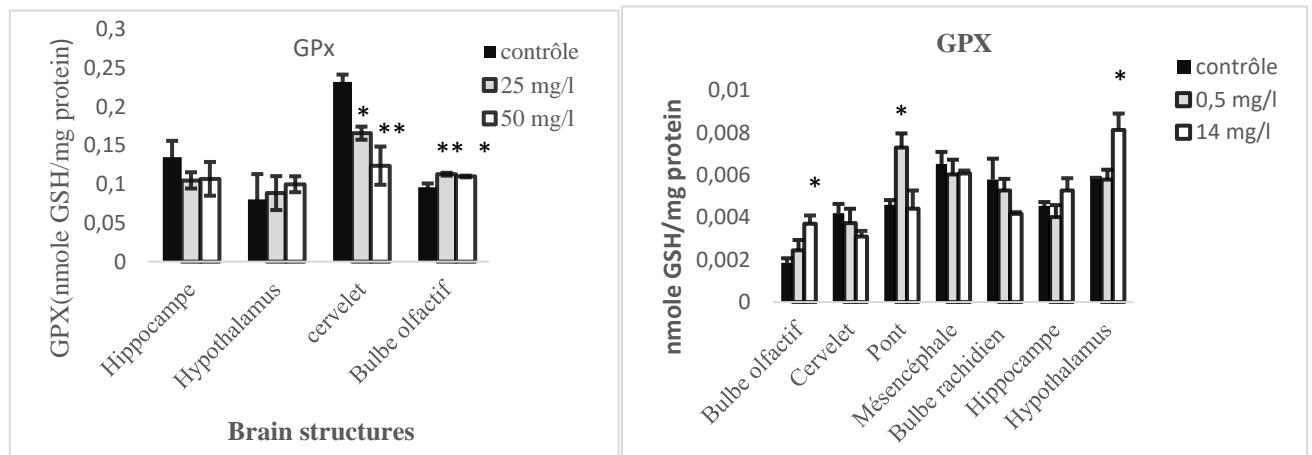


Figure 64 : Effet du glyphosate sur l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (nmol GSH/protéine) dans le bulbe olfactif, l'hypothalamus, le mésencéphale, le pont, le cervelet, le bulbe rachidien et l'hippocampe chez les souris adultes témoins et traitées. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=7), 0.5mg/l (n=7), 14mg/l (n=7), 25mg/l (n=7) et 50mg/l (n=7). * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, (One Way ANOVA).

- GPx hépatique, rénal et les testicules chez les souris adultes.

L'analyse statistique des résultats de la GPx hépatique montre une augmentation significative chez les souris mâles exposées au GLP (50mg/l) ($p=0,002$, $f=13.831$) par rapport aux souris témoins. Alors que, le dosage de cette enzyme dans les reins ne présente pas de différence

significative entre les souris traitées et leurs témoins. De plus, une variation significative a été observée au niveau testiculaire chez les souris traitées (0.5 mg/l et 14 mg/l ($p=0,004$, $f=19.743$ et $p=0,04$, $f=19.743$) et leurs témoins (**Figure 64**).

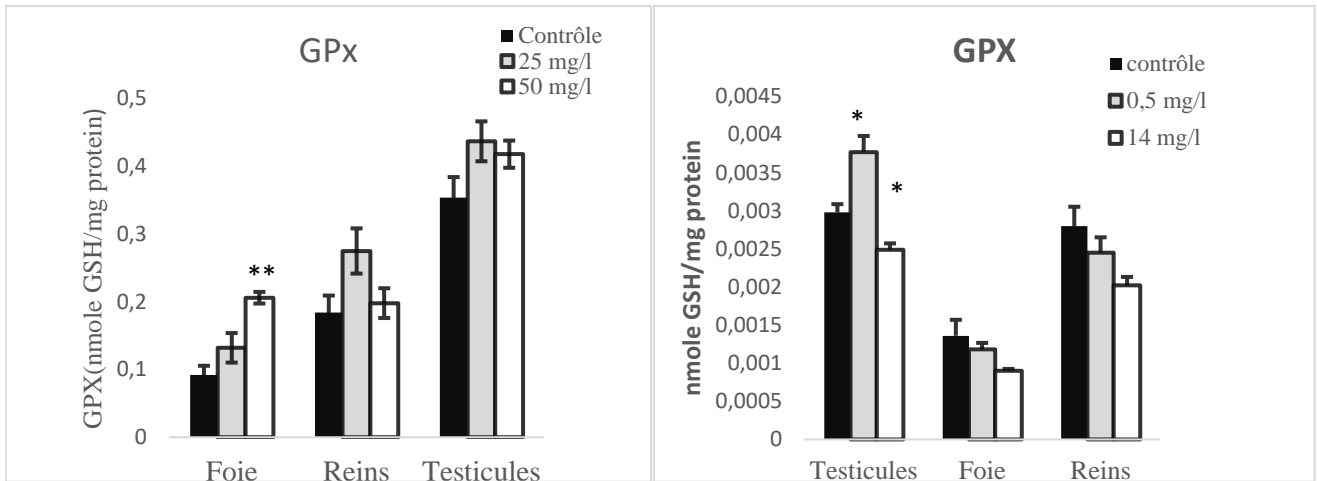


Figure 65 : Effet du glyphosate sur l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (nmol GSH/protéine) dans le foie, les reins et les testicules chez les souris adultes témoins et traitées. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=7), 0.5mg/l (n=7), 14mg/l (n=7), 25mg/l (n=7) et 50mg/l (n=7). * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, (One Way ANOVA).

XVII.1.3 Dosage de la superoxyde dismutase (SOD)

- SOD cérébrale Chez les souris adultes

Une diminution significative de l'activité de la SOD est observée chez les souris exposées au niveau de l'hippocampe ($p=0,025$, $f=6.249$), le cervelet ($p=0,019$, $f=15,326$), le bulbe rachidien ($p=0,001$, $f=33,48$) et le mésencéphale ($p=0,038$, $f=6.626$ et $p=0,013$, $f=6.626$), (**Figure 65**), alors qu'au niveau de l'hypothalamus ($p=0,001$, $f=3239,805$) cette activité a montré une augmentation significative. Cette activité est également diminuée dans le bulbe olfactif mais elle n'a pas atteint un niveau significatif, (**Figure 65**).

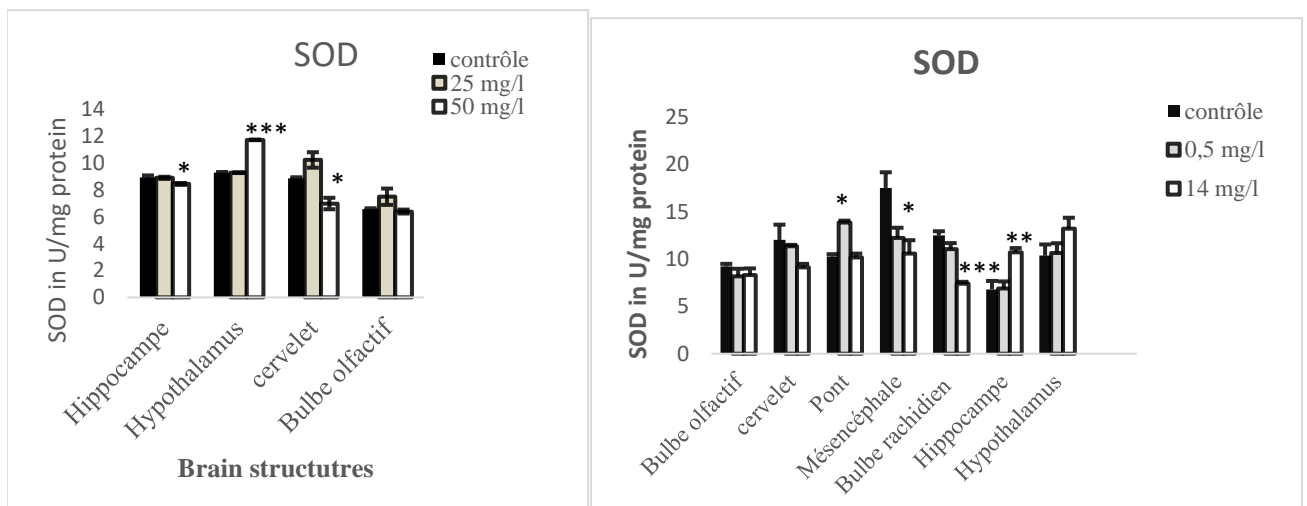


Figure 66 : Effet du glyphosate sur l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) dans le bulbe olfactif, l'hypothalamus, le mésencéphale, le pont, le cervelet, le bulbe rachidien et l'hippocampe chez les souris adultes témoins et traitées. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=7), 0.5mg/l (n=7), 14mg/l (n=7), 25mg/l (n=7) et 50mg/l (n=7). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

- **SOD hépatique, rénale et testicules chez les souris adultes**

Une variation significative de l'activité de la SOD est observée chez les souris exposées au niveau du foie, les reins et les testicules par rapport aux témoins (**figure 66**), alors qu'au niveau de certaines doses cette activité n'a pas montré aucune différence significative.

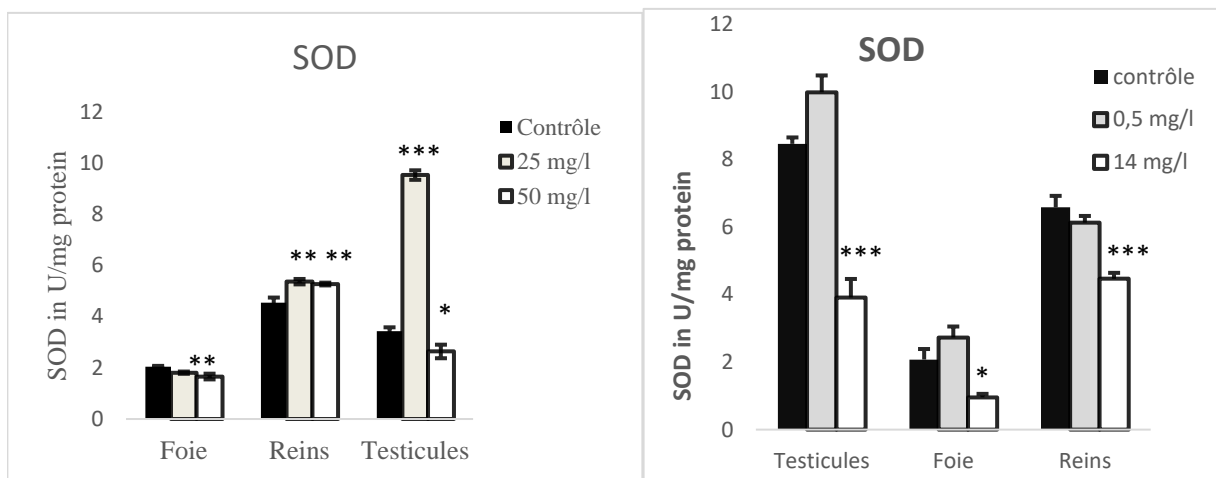


Figure 67 : Effet du glyphosate sur l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) dans le le foie, les reins et les testicules chez les souris adultes témoins et traitées. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=7), 0.5mg/l (n=7), 14mg/l (n=7), 25mg/l (n=7) et 50mg/l (n=7). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

XVII.1.4 Dosage de la catalase (CAT)

- **CAT cérébrale Chez les souris adultes**

Après l'exposition au GLP, l'activité catalase (CAT) est significativement réduite dans l'hippocampe ($p=0,017$, $f=5,932$), le cervelet ($p=0,038$, $f=8.701$ et $p=0,009$, $f=8.701$), et le mésencéphale ($p=0,005$, $f=41.296$ et $p=0,004$, $f=41.296$) (**Figure 67**). A l'inverse cette activité est plus élevée sous l'effet du GLP accumulé au niveau de l'hypothalamus ($p=0,004$, $f=35.854$ et $p=0,001$, $f=35.854$).

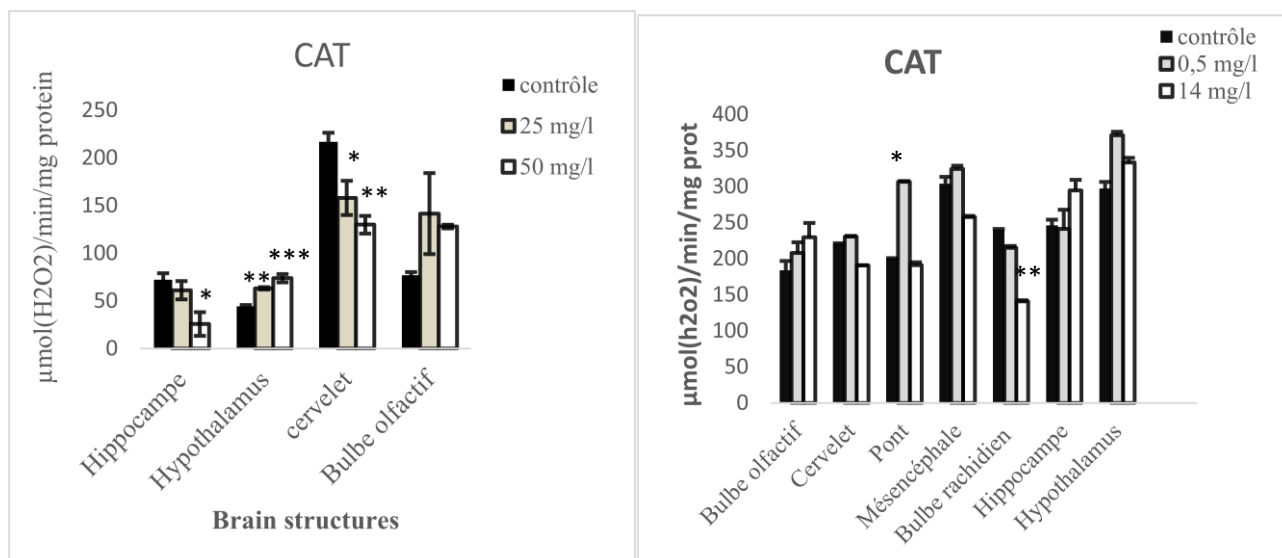


Figure 68 : Effet de glyphosate sur l'activité de la catalase au niveau des structures cérébrales (Bulbe olfactif, Hypothalamus, Mésencéphale, Pont, Cervelet, Bulbe rachidien et Hippocampe) chez les souris traitées et leurs témoins. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=7), 0.5mg/l (n=7), 14mg/l (n=7), 25mg/l (n=7) et 50mg/l (n=7). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

-CAT hépatique, rénal et testicules chez les souris adultes

Nos résultats montrent que l'exposition au GLP a augmenté significativement l'activité de la catalase (CAT) du foie chez les souris traitées avec 25 mg/l et 50mg/l ($p=0,029$, $f=22.491$ et $p=0,001$, $f=22.491$) par rapport aux témoins (**Figure 68**), alors qu'au niveau des autres organes (les reins et les testicules) cette activité n'a montré aucune différence significative.

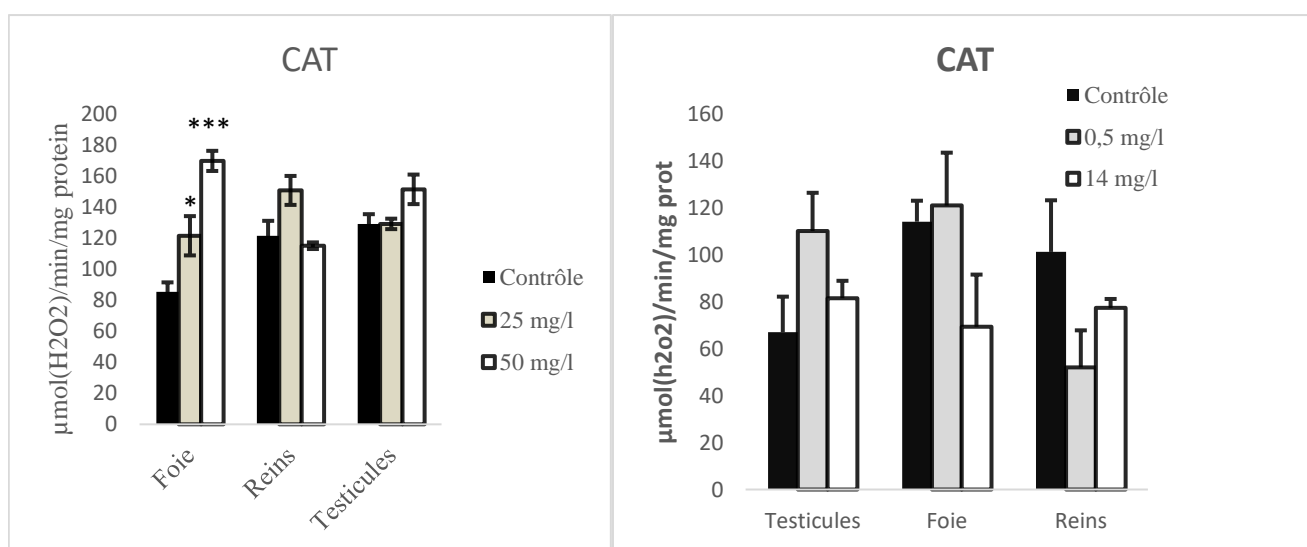


Figure 69 : Effet de glyphosate sur l'activité de la catalase au niveau des organes (le foie, les reins et les testicules) chez les souris traitées et leurs témoins. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=7), 0.5mg/l (n=7), 14mg/l (n=7), 25mg/l (n=7) et 50mg/l (n=7). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

XVII.1.5 Dosage de l'activité de la glutathion S-transférase (GST)

- GST cérébrale Chez les souris adultes

L'activité de la glutathion S-transférase (GST) est caractérisée par des effets contrastés dans les différentes structures analysées. Ainsi, nous avons constaté une diminution significative au niveau de l'hippocampe (50mg/l) ($p=0,005$, $f=11.927$), le cervelet (25mg/l et 50mg/l) ($p=0,006$, $f=14.309$ et $p=0,003$, $f=14.309$) et le bulbe rachidien (14mg/l) ($p=0,01$, $f=9.693$) (**Figure 69**), alors qu'une augmentation significative est observée au niveau l'hippocampe ($p=0,003$, $f=12.62$) et l'hypothalamus ($p=0,002$, $f=15.386$) chez les souris traitées avec 14 mg/l du GLP par rapport aux témoins.

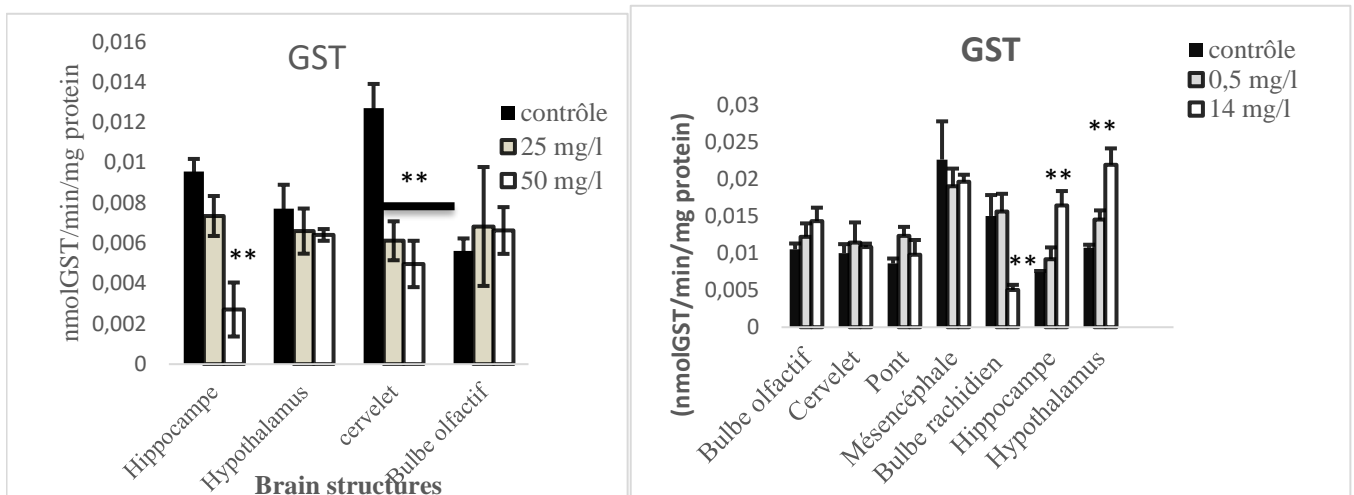


Figure 70 : Variation de l'activité de la glutathion s-transférase au niveau des structures cérébrales (Bulbe olfactif, Hypothalamus, Mésencéphale, Pont, Cervelet, Bulbe rachidien et Hippocampe) des souris traitées et témoins. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=7), 0.5mg/l (n=7), 14mg/l (n=7), 25mg/l (n=7) et 50mg/l (n=7). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

- GST hépatique, rénal et testicules chez les souris adultes.

Nos résultats révèlent des variations non significatives de l'activité de la glutathion S-transférase dans les organes analysés (le foie, les reins et les testicules) chez les souris traitées par rapport aux témoins (**figure 70**).

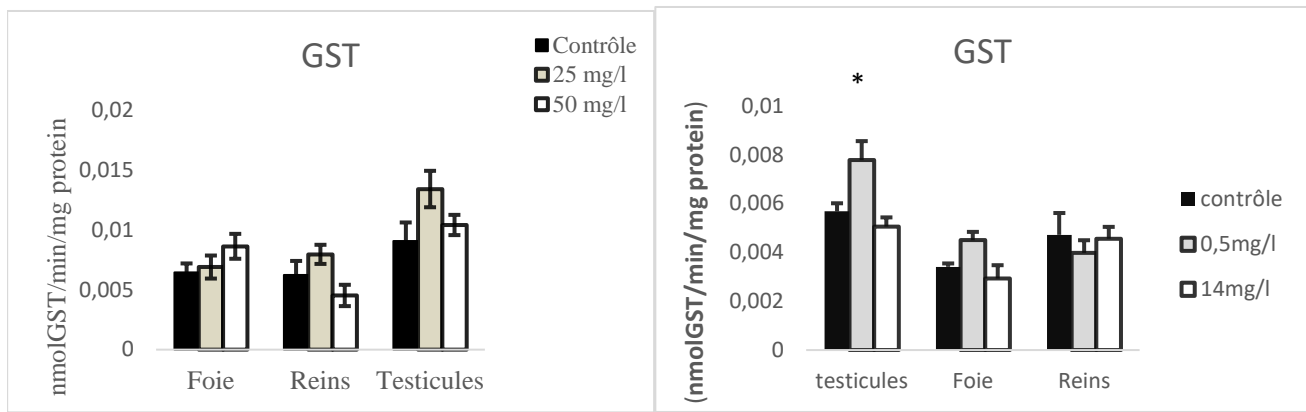


Figure 71 : Variation de l'activité de la glutathion s-transférase au niveau des organes (le foie, les reins et les testicules) des souris traitées et témoins. Les résultats sont présentés comme moyenne \pm S.E.M.* ; témoins (n=7), 0.5mg/l (n=7), 14mg/l (n=7), 25mg/l (n=7) et 50mg/l (n=7). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, (One Way ANOVA).

XVIII. Discussion

Les troubles neurocomportementaux de l'exposition du glyphosate pendant La grossesse et l'allaitement (jusqu'à 21 jours) chez la progéniture des souris.

L'impact des doses sublétales du GLP (un organophosphoré) sur la santé humaine et l'environnement est un sujet préoccupant. Bien que le GLP ait une faible persistance dans l'environnement (Primost et al., 2017), son taux d'utilisation pourrait avoir un impact négatif sur l'environnement (Mamy et al., 2010).

Il a été rapporté que les OP peuvent traverser le placenta et atteindre le fœtus (Rauh et al., 2006; Whyatt et al., 2009). Ainsi, les fœtus sont plus vulnérables aux OP (Tau & Peterson, 2010). L'exposition à un faible niveau de OP peut influencer les comportements émotionnels (Roegge et al., 2008), le développement des cellules neuronales et les systèmes d'acétylcholine (Slotkin et al., 2008) et le stress oxydatif (Slotkin & Seidler, 2009). Depuis, il a été démontré que la GBH est capable de traverser la barrière placentaire, ce qui pourrait éventuellement perturber le processus de développement du fœtus (Mose et al., 2008).

En dernier lieu, nous expliquerons les effets du glyphosate mis en évidence par des études neurocomportementales qui seront notre outil de travail. D'autant plus que les études portant notamment sur les effets du glyphosate sur le système nerveux central de la progéniture de la souris par exposition in utero est rare.

Les humains sont indirectement exposés au GLP par des aliments et de l'eau contaminés par des résidus de GLP. Selon l'agence de protection de l'environnement des États-Unis (US EPA), le niveau supérieur de GLP autorisé dans l'eau destinée à la consommation humaine est de 0.7mg/l (US-EPA, 2011). C'est pour cela que nous avons utilisé dans cette étude une dose (0.5mg/l) inférieure à celle autorisée et les autres doses se situent en dessus de la dose sans effet. En effet, dans ce travail, nous avons étudié l'effet de quatre doses de GLP. Le choix de ces doses, du moins pour les plus basses a été motivé par le souci d'explorer les éventuels effets de "doses" classées en deçà des "doses autorisées" et connus comme étant sans risque pour la santé humaine. Il faut noter à cet égard que ces doses ou LMR de l'ordre de mg/l. En effet, bien que ces doses soient considérées comme "sûres", il n'en demeure pas moins que leur bioaccumulation et leur administration durant des périodes hautement sensibles de la vie (gestation, développement) n'a pas été largement investiguée pour pouvoir conclure à une absence totale d'effets toxiques. En appui à cette assertion, les résultats récents de notre laboratoire ont pu mettre en évidence des dérégulations d'ordre physiologique

développementaux chez des nouveau-nés issus de souris gestantes ayant reçu une dose très faible d'un autre insecticide OP (malathion) (Ouardi et al., 2019). Ces données qui représentent une première ont été reprises et citées depuis dans plusieurs publications spécialisées, vu l'importance sanitaire. Dans la même visée, nous nous sommes attelés à expérimenter de très faibles doses en deçà des "LMRs" recommandées soit au niveau des eaux de boissons ou de l'alimentation (FAO-WHO,2021). Il s'agit dans ce cas de la dose de 0.5mg/l et à moindre mesure de la dose de 14 mg/l. Des doses importantes de l'ordre de 25 mg/l et de 50 mg/l ont été également expérimentées mais restent en deçà de la NOAEL préconisée (500 mg/kg/j). Ceci pointe l'originalité de notre démarche et la différencie des autres études traitant de l'effet du GLP administré durant les périodes gestationnelle et périnatale, bien que ces études soient rares dans leur ensemble (Ait-Bali et al., 2020; Gallegos et al., 2018).

L'objectif de ce travail est d'évaluer les effets neurocomportementaux d'une exposition subchronique et chronique du glyphosate pendant la grossesse et l'allaitement. À ce propos, des souris gestantes ont été exposées à 0.5 mg/l, 14 mg/l, 25mg/l et 50 mg/l du GLP (via l'eau potable) pendant la grossesse et l'allaitement et les altérations neurocomportementales de la progéniture ont été analysées. Pour cette fin, le jour postnatal où chaque souriceau a développé des réflexes néonataux (surface réflexe de redressement, évitement de la falaise (Cliff avoidance), la réaction anti-gravitaire (négative geotaxis), saut vers le bas avec le test de choix et le développement de la natation .) et les paramètres physiques (le détachement des oreilles, l'apparition des poils ,l'éruption des incisives, l'apparition du sexe et l'ouverture des yeux) ont été enregistrées pour l'évaluation du développement sensorimoteur. L'activité locomotrice, les niveaux d'anxiété, la mémoire et la sociabilité ont été contrôlés par des tests d'open Field, le labyrinthe en croix surélevé (EPM), le labyrinthe en y (y-maze), reconnaissance des objets et le test d'interaction sociale respectivement chez les souriceaux après 21 jours. Nos résultats ont révélé que l'exposition au GLP pendant la gestation induit un retard dans le développement des réflexes néonataux et une augmentation de l'anxiété, une altération de la sociabilité ainsi que des déficits dans les processus d'apprentissage et de mémoire, à différents âges postnataux après la mise bas sur une période de 21 jours ou le traitement des mères allaitantes a continué à se faire. Il est important de noter que les souriceaux traités par 0.5 mg/l, 14mg/l, 25mg/l et 50mg/l du GLP provoquent un retard dans la l'acquisition du réflexe de redressement aux jours PN5 et PN7. Alors que, l'exposition à la faible dose (25mg/l) du glyphosate n'affecte pas la surface réflexe de redressement au jour PN7.

Pour "le négatif géotaxie" il faut noter que les souriceaux exposés à la plus forte dose de GLP ont besoin d'un temps de rotation nettement plus long aux jours postnataux PN7, PN9 et PN13 par rapport aux témoins. En outre, nos résultats ont montré que l'exposition aux quatre doses (0.5 mg/l, 14 mg/l, 25mg/l et 50 mg/l) du GLP pendant la gestation et l'allaitement des souris n'affecte ni les paramètres physiques ni l'évitement de la falaise ni Le développement de la natation (Swimming développement) et le test de choix (jumping) des souriceaux aux jours postnataux. Par contre, le GLP entraîne des variations du poids corporel, la longueur de la queue et la longueur du corps des souriceaux sur les différents jours postnataux. A ce niveau, il apparaît déjà que le glyphosate même à de très faibles doses agit sur la maturation sensorimotrice au niveau du système nerveux ce qui pointe sa dangerosité. Des études antérieures ont mis en évidence des changements au niveau de certains de ces paramètres (Gallegos et al., 2016) mais en utilisant des doses dépassant les valeurs de la NOAEL.

Si nous comparons de manière grossière nos résultats (pas d'effet du glyphosate sur l'activité locomotrice) avec ceux rapportés par Ait Bali et ses collaborateurs (effet notable du GLP sur l'activité locomotrice), nous pourrions conclure à des effets différents et notamment les résultats obtenus par Gallegos et al. (Gallegos et al., 2016). Cependant, nos données sont en phase avec ceux de Cattani et al, qui montrent que chez les rats exposés au GLP par voie orale pendant la période pré et postnatale n'ont pas montré de diminution de l'activité locomotrice, même lorsque le traitement a induit une diminution du gain de masse corporelle (Cattani et al., 2017) .

En accord avec nos résultats, une autre étude récente a montré que l'exposition chronique pré et postnatale au GLP provoquait des troubles comportementaux et cognitifs chez les souris adultes. Cette exposition a induit un retard dans le développement des réflexes (Ait-Bali et al., 2020). Dans ce sens, il a été montré aussi que l'exposition au glyphosate pendant la gestation induit des altérations neurocomportementales (des changements dans le développement des réflexes, l'activité motrice et la fonction cognitive) (Coullery et al., 2020). En fait, le développement et l'expression des réflexes chez les nouveau-nés ont été considérés comme un indice de la maturation et de la connectivité du cerveau (Tamburella et al., 2012). Nos résultats confirment ces études : juste après la naissance, nous avons constaté que la descendance dont les mères ont été exposées au GBH présentaient des réflexes de développement retardés, pouvant être liés à une maturité anormale des fonctions sensorimotrices, et pourraient représenter un facteur de prévision d'autres troubles du comportement à l'âge adulte (Fox, 1965; Iezhitsa et al., 2001). En conséquence, le retard dans le développement des réflexes néonataux

induits par une exposition précoce au GLP pourrait indiquer des troubles de la maturation cérébrale causés par l'herbicide.

En ce qui concerne la fonction cognitive, nous avons également effectué des tests cognitifs (y-maze et reconnaissance d'objet) pour évaluer l'effet de l'exposition gestationnelle du GLP sur l'apprentissage spatial et la mémoire. Ces deux tests comportementaux impliquent l'intégrité de l'hippocampe.

Tout d'abord, nous avons effectué le test du labyrinthe en Y après 21 jours postnataux montrant une diminution du taux d'alternance spontanée et le nombre des entrées dans les trois bras chez les souriceaux traités par le GLP (25mg/l et 50mg/l). Le test de la reconnaissance d'objets, quant à lui, a montré une diminution de l'indice de reconnaissance et l'indice de discrimination chez les souriceaux traités par le GLP (25mg/l et 50 mg/l). Néanmoins, l'exposition de la faible dose (inférieure à celle autorisée 0.7 mg/l) et à de 14 mg/l de GLP n'ont pas montré de différence significative par rapport aux témoins. Ces observations suggèrent que l'exposition au GLP pendant la gestation affecte la rétention de la mémoire chez souriceaux. Dans le même contexte de nos recherches, plusieurs études ont montré l'altération des fonctions cognitives chez les rongeurs après une exposition au GLP ou au GBH. Par exemple, l'exposition au GBH altère la reconnaissance et la mémoire de travail chez les souris : preuve d'un dysfonctionnement cortical et hippocampique (Ait-Bali et al., 2020). En outre, L'exposition périnatale au GBH chez les rats modifie le statut des antioxydant cérébral, le métabolisme du glutamate et de l'acétylcholine et affecte la mémoire de reconnaissance (Gallegos et al., 2018). Dans un rapport de cas, il a été même décrit le cas d'une patiente qui a subi un accident vasculaire cérébral dans son hippocampe gauche suite à une exposition de glyphosate (Nishiyori et al., 2014). Il est intéressant de noter qu'une étude a démontré que le glyphosate affecte l'absorption, la libération et le métabolisme du glutamate dans les cellules neurales, entraînant un afflux de Ca^{2+} par l'intermédiaire des récepteurs NMDA et du L-VDCC dans l'hippocampe de rats immatures (Cattani et al., 2014). une autre étude a montré également une association entre l'exposition à l'herbicide à base de glyphosate (GBH) et les comportements de type dépressif (Cattani et al., 2017). En fait, Le développement neuronal et la croissance des axones sont modifiés par le glyphosate via une voie de signalisation non canonique WNT (Coullery et al., 2016). Coullery et al., (2020) suggèrent que l'exposition gestationnelle au glyphosate entraîne une inhibition de la voie de signalisation Wnt5a-CaMKII qui pourrait induire une neurotoxicité développementale mise en évidence par des déficits aux niveaux comportemental et cognitif chez les rats.

Généralement, ces résultats démontrent que l'exposition pré et/ou postnatale au GLP ou à la GBH peut entraîner une altération des capacités cognitives, puisque les processus d'apprentissage et de la mémoire peuvent être affectés.

L'exposition au glyphosate pendant la gestation et l'allaitement augmente le niveau d'anxiété et réduit le comportement social chez la progéniture des souris.

Concernant le niveau d'anxiété, les souriceaux exposés aux doses de 25 mg/l et de 50 mg/l de GLP passent plus de temps en zone périphérique, au détriment de la zone centrale de l'Open Field, et l'exploration préférentielle de la zone périphérique du dispositif est considérée comme un indice d'anxiété (Simon et al., 1994). Nos résultats confirment l'augmentation de l'anxiété suite à une exposition périnatale et postnatale au GLP, et ce aux deux doses testées. Ce qui est en accord avec une autre étude qui démontre que l'administration répétée par voie intranasale (IN) d'un GBH chez des souris adultes produit des altérations neurocomportementales, impliquant des troubles de l'anxiété et de la mémoire (Baier et al., 2017). En outre, Ait Bali et al. (2017) ont observé que l'exposition subchronique et chronique à la GBH par voie orale (250 ou 500 mg/kg/jour) augmentait l'anxiété chez les souris traitées. De plus, l'administration subchronique et chronique de GBH augmente les niveaux de comportement de type dépressif et réduit l'immunoréactivité de la tyrosine hydroxylase et de la sérotonine dans les différentes zones du cerveau (Bali et al., 2017). De même, une autre étude montre que l'exposition précoce à un herbicide à base de glyphosate affecte le système nerveux central de la progéniture des rats, probablement en perturbant les mécanismes ou les systèmes de neurotransmetteurs qui régulent l'activité locomotrice et l'anxiété (Gallegos et al., 2016). Il a été rapporté aussi que le glyphosate provoque des changements comportementaux et des altérations des marqueurs dopaminergiques chez le rat mâle (Hernández-Plata et al., 2015). En effet, L'activité de l'amygdale, du noyau de la stria terminalis, de l'hippocampe ventral et du cortex préfrontal sont impliqués dans la réponse à l'anxiété (Gwendolyn G. & Tye, 2015). En ce qui concerne les neurotransmetteurs qui impliquent dans les états anxieux, l'influence de la 5-hydroxytryptamine (sérotonine, 5-HT), de la dopamine, de l'acide -aminobutyrique (GABA), du glutamate et de l'acétylcholine, ainsi que de leurs récepteurs, a été démontrée (Cortese & Phan, 2005; D. Liu et al., 2013; E. I. Martin et al., 2009; Olivier et al., 2013; Picciotto et al., 2015; Simon et al., 1994). L'exposition au GLP pendant la gestation puis l'allaitement peut provoquer des modifications du métabolisme de structures cérébrales clés, directement impliquées ou hautement liées à d'autres zones jouant un rôle dans les fonctions cognitives, l'anxiété, la peur, l'identification des émotions et le système de récompense (Ait-Bali et al., 2020; Gallegos et al., 2016). Cela

peut clairement être lié à l'augmentation du niveau d'anxiété. En général, parmi les structures anatomiques impliquées dans les comportements anxieux, se trouvent notamment les noyaux amygdaliens, le noyau accumbens, l'hippocampe, le noyau hypothalamique ventromédian, la matière grise périacqueductale, les noyaux thalamiques, le cortex préfrontal, et plusieurs noyaux du tronc cérébral (Shin & Liberzon, 2010).

Dans le test d'interaction sociale, nous avons évalué l'effet du GLP administré durant les périodes péri- et postnatale chez la progéniture. Nos résultats montrent un effet significatif chez souriceaux traités par des doses (25 mg/l et 50 mg/l) du GLP sur le temps passé en contact de la grille étranger 1 et étranger 2 lors de la deuxième session. Par contre, nous n'avons pas révélé de différences significatives chez les souriceaux traités par 0.5 mg/l (inférieure à celle autorisée) et 14 mg/l par rapport aux témoins. Ces résultats montrent une altération de la sociabilité des souriceaux traités évocatrice d'un syndrome autistique. En effet, Le diagnostic de l'autisme (un trouble neurodéveloppemental) repose sur trois catégories de critères comportementaux : les interactions sociales anormales, les déficits de communication et les comportements répétitifs (Silverman et al., 2010). De plus, d'autres travaux fournissent un lien entre l'exposition prénatale et postnatale d'un herbicide (Le glufosinate d'ammonium) et l'apparition des symptômes de type autisme plus tard dans la vie (Laugeray et al., 2014).

Glyphosate et comportements maternels

Le comportement maternel comprend l'ensemble des interactions entre les femelles et leurs descendants et jouant un rôle important dans le développement sensorimoteur normal de la progéniture. Le GLP administré en continu a provoqué une toxicité notable chez les femelles gestantes. Nos résultats montrent une augmentation du temps de l'allaitement passif et une diminution du temps passé aux activités maternelles (contact avec les souriceaux) et du temps passé dans les activités non maternelles (se nourrir). De même, nous avons montré que le temps des trois paramètres du test de récupération (premier contact avec les souriceaux, récupération du premier souriceau et le temps pour récupérer tous les souriceaux) sont plus importants chez les femelles traités par rapport aux témoins. Des allégations similaires ont rapporté un effet du glyphosate seul ou en formulation (Roundup) sur le comportement maternel et la neuroplasticité chez la mère (Dechartres et al., 2019). Deux régions du cerveau, La zone sous-ventriculaire ou ZSV (une partie du cerveau située près des ventricules latéraux) et la zone sous-granulaire dans le gyrus denté de l'hippocampe sont connues pour produire un grand nombre de nouveaux neurones à l'âge adulte (Lim & Alvarez-Buylla, 2014; Zhao et al., 2008). Surtout, la

neurogenèse hippocampique est fortement modulé pendant la gestation et la période postnatale chez les rongeurs (Darnaudéry et al., 2007; J. L. Pawluski & Galea, 2007; Jodi L Pawluski et al., 2016) .Des études ont montré que certains substances chimiques (chlorpyrifos, les pyréthrinoides) dans l'environnement peuvent altérer la neuroplasticité et la neurogenèse de l'hippocampe (Hossain et al., 2015; L. Wang et al., 2013) .

Effet du glyphosate sur le stress oxydatif et l'AChE cérébral chez les souriceaux.

-Glyphosate et l'AChE

Les recherches de l'effet du GLP sur l'AChE au niveau de différentes structures cérébrales et plus particulièrement aux jours postnataux PN5, PN10, PN15 et PN21 sont très rares. Nos résultats montrent que l'exposition au GLP pendant la gestation et l'allaitement entraine une augmentation de l'AChE dans le cervelet / le tronc cérébral (50mg/l) au jour PN5. Alors que, nous n'avons pas observé d'effet chez les souriceaux traités par 25 mg/l par rapport aux témoins. Ensuite, nous avons constaté une augmentation significative de l'AChE (chez les souriceaux traités par 25 mg/l du GLP) et une diminution de l'activité de cette enzyme chez les souriceaux traités par 50 mg/l du GLP dans les hémisphères cérébraux. De plus, Nous avons remarqué que le GLP (25mg/l et 50mg/l) a provoqué une diminution de l'AChE dans le cervelet, tronc cérébral et les hémisphères droit et gauche chez les souriceaux aux jours PN21. De même, une diminution de cette enzyme aux jours PN10 (au niveau du tronc cérébral et l'hémisphère gauche) a été observée chez les souriceaux traités par GLP. Néanmoins, aucun effet de cet herbicide a été montré dans ces différentes structures cérébrales aux jours PN15. On peut conclure en somme que le GLP entraine une diminution de l'AChE. Ceci est conforme à une recherche précédente montrant que l'exposition maternelle au diminue l'activité de la cholinestérase dans l'hippocampe de la progéniture immature et du jeune adulte (Cattani et al., 2017) . Une autre étude a confirmé que l'exposition aux herbicides à base de glyphosate réduit l'activité de l'AChE dans le cerveau des rats adultes (Gallegos et al., 2018). En plus de cela, une étude a montré une diminution significative de l'activité spécifique de l'AChE dans le cerveau des souris traitées par le glyphosate (Ait bali et al., 2019) . Plusieurs études sur des espèces non mammifères ont montré une inhibition de l'acétylcholinestérase par le glyphosate. Par exemple, le glyphosate a inhibé l'acétylcholinestérase dans le cerveau de *Cnesterodon decemmaculatus* à partir de 1 ppm (Menéndez-Helman et al., 2012). Cette enzyme est en fait inhibée dans divers modèles par des doses de GBH dans l'ordre des ppm chez *Cyprinus carpio* (Cattaneo et al., 2011), *Prochilodus lineatus* (Modesto & Martinez, 2010), les têtards amphibiens (Lajmanovich

et al., 2011), *Leporinus obtusidens* (Gluszczak et al., 2006; Salbego et al., 2010), et le poisson-chat argenté (Gluszczak et al., 2007). La réduction de l'activité de l'AChE chez les animaux traités pourrait être lié aux fonctions cognitives et anxieuses (Mineur et al., 2013). Il faut noter que l'inhibition de l'AChE provoquait un stress oxydatif, qui induit une neurotoxicité pouvant se manifester par des troubles cognitifs chez les rongeurs (Kazi & Oommen, 2012).

-Glyphosate et les Systèmes antioxydants d'enzymes

Le cerveau et le système nerveux sont vulnérables au stress oxydatif, et sont insuffisamment équipés de systèmes de défense antioxydants pour prévenir les dommages oxydatifs "continus", sans parler des dommages oxydatifs supplémentaires imposés par la maladie neurodégénérative (Halliwell, 2006). Il est dans ce sens raisonnable de penser qu'il existe un lien entre le stress oxydatif et les lésions cérébrales.

L'herbicide à base du glyphosate peut induire un stress oxydatif, en raison de l'augmentation de la perméabilité de la membrane mitochondriale aux protons et au Ca^{2+} (Mariana Astiz et al., 2009). En fait, le Ca^{2+} est considéré comme l'un des principaux stimulateur de l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) mitochondriales car il favorise les altérations structurelles de la membrane mitochondriale interne (Kowaltowski & Vercesi, 1999). Le GLP perturbe les fonctions reproductives des mâles en déclenchant la mort cellulaire induite par le calcium dans les testicules et les cellules de Sertoli des rats (De Liz Oliveira Cavalli et al., 2013). Nos résultats montrent que l'exposition prénatale et postnatale du GLP peut induire un stress oxydatif par l'altération des activités enzymatiques (SOD, GPX, GST et CAT) et non enzymatiques (MDA) chez la progéniture de la souris. Ait Bali et al, (2019) ont également montré une diminution importante des activités de la SOD et de la PO dans le cerveau des souris traitées par GBH. Il est intéressant de noter que le GLP a induit la production de ROS dans le cerveau des souriceaux exposés, et ce qui entraîne la peroxydation des acides gras polyinsaturés dans la membrane du cerveau, ce qui a conduit à la formation de MDA, l'un des sous-produits de la peroxydation lipidique comme a été démontré par plusieurs études récentes (Jasper et al., 2012; Owagboriaye et al., 2017). Cependant, les réductions des activités SOD et CAT dans le cerveau des souriceaux exposés peuvent être affectées probablement à la production excessive de radicaux libres ou de ROS que le glyphosate peut avoir infligé aux structures du cerveau après l'exposition. La GPx joue un rôle majeur dans la détoxification et elle utilise le GSH pour ses activités enzymatiques. L'augmentation de la GPX aux jours postnataux PND5 et PND10 dans le cervelet et le tronc cérébral a été démontrée chez les souriceaux traités par GLP. En

effet, la réduction des activités de la GPx (PND10 et PND15) dans les hémisphères droit et gauche des souriceaux exposés pourrait résulter de la réduction de leur GSH cérébrale. Cependant, la présence de peroxydation lipidique observée dans les structures du cerveau des souriceaux exposés dans cette étude peut être associée à une activité réduite de SOD, CAT et GPx. Pris ensemble, cette dérégulation dans les activités enzymatiques antioxydantes pourrait être associée à des troubles neurocomportementaux (l'anxiété, la mémoire et la sociabilité) et la voie cholinergique (l'inhibition de l'AChE).

Effet du GLP sur le stress oxydatif, de l'AChE cérébral et sur le comportement chez l'adulte.

D'après nos résultats, l'exposition prénatale et postnatale des souris au glyphosate a entraîné des changements de comportement et des altérations cognitives chez la progéniture. Ces altérations vont persister jusqu'à l'âge adulte avec la continuité de l'intoxication par le glyphosate. Les troubles comportementaux observés chez les souriceaux indiquent clairement que le GLP est capable de franchir la barrière hémato-encéphalique malgré sa faible capacité lipophile. Chez l'adulte l'évaluation des effets de cet herbicide dans le cerveau montre des altérations dans les activités enzymatiques ainsi que dans les tests comportementaux.

En effet, nos résultats montrent clairement qu'une exposition chronique au GLP à des doses faibles induit des altérations persistantes de la mémoire, de l'interaction sociale ainsi que l'installation de l'état d'anxiété chez la souris adulte. La présente étude indique également que l'exposition au GLP diminue l'activité de l'AChE impliquée dans la dégradation de l'ACh au niveau des synapses muscariniques et nicotiques. Ceci est en accord avec une étude récente qui a rapporté que l'exposition au GLP diminue l'activité de l'AChE dans l'hippocampe de la souris adulte (Cattani et al., 2017). Cette diminution pourrait être expliquée de l'AChE par le taux élevé de MDA chez les souris traitées par rapport aux témoins. La peroxydation lipidique est connue pour affecter les organites membranaires, en particulier les mitochondries (Pan et al., 2018). Il a été rapporté que le GLP augmente la peroxydation lipidique, altère la perméabilité mitochondriale et l'homéostasie du calcium (Ca^{2+}) (Astiz et al., 2009). Il est intéressant de noter que la peroxydation lipidique a été signalée comme étant élevée chez les souris adultes traitées par GLP (Ait bali et al., 2019). Cette réduction de l'activité de l'AChE pourrait être liée à une altération de la mémoire chez les souris adultes. En effet, des résultats antérieurs ont également révélé des troubles cognitifs chez les souris adultes exposées à des doses de GLP aux stades péri- et postnataux (Ait-Bali et al., 2020). Les résultats obtenus dans

l'OF montrent également que le GLP induit un état d'anxiété, puisque nous avons mesuré une augmentation du temps passé en périphérie par rapport au temps passé au centre. En effet, un temps plus élevé passé en périphérie du champ ouvert est associé à un niveau d'anxiété plus élevé. De plus, nous avons examiné l'effet anxiogène du GLP chez les souris adultes par d'autres tests comportementaux, tels que le test d'EPM, qui est l'un des tests le plus utilisé dans la recherche scientifique pour évaluer l'anxiété (Costa et al., 2015). Ainsi dans le test d'EPM, les souris mâles traitées par 50 mg/l ont montré un comportement anxiogène, une augmentation de l'indice d'anxiété et une diminution du nombre d'entrées dans les bras ouverts par rapport à ceux du groupe témoin. Des effets similaires ont été rapportés pour le GLP et le malathion (Ait-Bali et al., 2020; Ouardi et al., 2019). Il est intéressant de noter que l'irrégularité de la sociabilité chez les animaux peut être utilisée comme indice de l'anxiété (Gwendolyn & Tye, 2015; Silverman et al., 2010). Nos résultats ont montré que l'exposition au GLP diminuait le comportement social car les souris traitées ont passées moins de temps à explorer la première et la deuxième souris étrangère lors de la première et la deuxième session du test. Ces résultats peuvent indiquer un déficit social spécifique chez les souris adultes traitées qui pourrait être plus indicatif des symptômes de l'autisme (Moy et al., 2004). Il est intéressant de noter que le comportement anxieux que nous avons observé chez les souris traitées est considéré comme un comportement potentiellement pertinent pour l'autisme (Lord et al., 2000). En plus de ces anomalies neurocomportementales, il a été rapporté que la contamination au glyphosate modifie le statut antioxydant du cerveau, le métabolisme du glutamate et de l'acétylcholine et affecte la mémoire de reconnaissance chez les rats (Gallegos et al., 2018). A noter que les résultats obtenus lors du test y-maze ont également montré que le glyphosate altère la mémoire au fur et à mesure qu'une diminution du pourcentage d'alternance et du nombre d'entrées dans les trois bras chez les souris traitées par rapport aux témoins. Ces troubles neurocomportementaux pourraient être liés à un dysfonctionnement de l'hippocampe et un état du stress oxydatif exagéré chez ces animaux (Ait-Bali et al., 2020; Gallegos et al., 2018). Il est intéressant de noter que l'inhibition de l'AChE ainsi qu'un stress oxydatif induirait une neurotoxicité pouvant se manifester par des troubles cognitifs chez les animaux (Kazi & Oommen, 2012). Le test de reconnaissance des objets appliqué aux souris adultes traitées a montré une altération de ce comportement (une diminution de l'indice de reconnaissance et l'indice de discrimination) qui pourrait être due à l'anxiété générée par le glyphosate. En effet, des études précédentes ont démontré un lien entre le stress oxydatif et les effets neurocomportementaux induits par le GLP (Ait bali et al., 2019; Cattani et al., 2021). Nous rapportons ici des effets sur les activités

enzymatiques SOD, GPx, CAT et GST dans les régions cérébrales analysées (cervelet, hippocampe et le bulbe olfactive). Concernant la SOD, il est intéressant de noter que cette enzyme catalyse la conversion des radicaux superoxydes en peroxyde d'hydrogène (qu'est décomposé en eau et en oxygène moléculaire) empêchant ainsi la formation de radicaux hydroxyles; L'activité de la SOD a été montrée dans cette étude comme étant généralement régulée négativement dans le cerveau, indiquant que le premier système de défense antioxydant enzymatique est sérieusement endommagé, ce qui peut par conséquent déclencher une peroxydation lipidique, comme le montre l'élévation des niveaux de MDA dans l'hippocampe. La GPx cérébrale est particulièrement inhibée de manière significative dans le cervelet et le bulbe olfactif chez les souris traitées avec 25 et 50mg/l du GLP. A noter que les changements dans l'activité de la GPx sont liés aux changements au niveau de la GSH cérébrale. Il est clair que l'exposition à des doses (25 mg/ et 50mg/l) de GLP utilisées provoquent un profil d'activité enzymatique différent. De plus, certains composants du système antioxydant notamment la GST et la CAT sont altérés dans les régions cérébrales analysées tels que ; l'hippocampe et le cervelet. Ceci pourrait être lié à la peroxydation lipidique élevée et une altération du statut de glutathion (GSH). Les résultats de notre étude sont en accord avec les rapports précédents chez les animaux traités par GLP indiquant des troubles du statut antioxydant qui pourrait produire des effets durables et potentielles conduire à des déficits neurologiques (effet négative sur la mémoire et la cognition, l'anxiété et la sociabilité) (Ait bali et al., 2019; Cattani et al., 2021; Gallegos et al., 2018; Martínez et al., 2020).

Effet du GLP sur le stress oxydatif hépatique et rénal.

Nous avons également analysé le système pro/anti-oxydant au niveau hépatique et rénal après traitement par GLP. Nous avons montré que le GLP peut causer un stress oxydatif entraînant des lésions au niveau centrale et périphérique. Le stress oxydatif se produit en raison d'un déséquilibre entre les facteurs créant un environnement pro-oxydant et le système de défense antioxydant (Zhu et al., 2012). Les espèces réactives de l'oxygène sont des molécules hautement réactives et pourraient endommager les molécules cellulaires telles que les lipides, les protéines ou l'ADN. Un excès de radicaux libres d'oxygène entraîne des dommages cellulaires (Zhu et al., 2012). Les effets sur le foie des animaux sont confirmés par une étude dans laquelle les marqueurs de dysfonctionnement hépatique mesurés chez les vaches (glutamate déshydrogénase, glutamate oxaloacétate transaminase et créatinine kinase) étaient statistiquement liés à leurs niveaux de glyphosate urinaire (Wieland Schrodli, 2013). Nos résultats chez les souris traitées ont montré une augmentation significative de la

peroxydation lipidique aux jours PN15 et PN21 alors que la réponse des enzymes antioxydants au niveau hépatique a montré un effet significatif de la GPx aux jours PN10, PN15 et PN21 et au jour PN21 pour la GST. Par contre, une diminution significative de la SOD (PN10, PN15 et PN21) et de la CAT (PN5, PN10 et PN15) a été observée chez les souriceaux traités par rapport aux témoins. Cette instabilité et dérégulation de ces enzymes au cours des 21 jours après la naissance chez les souriceaux peut être due principalement à leur exposition durant le stade gestationnelle et lactationnelle. En effet, Le développement normal du fœtus dépend donc en grande partie du niveau de l'exposition de la mère à ces contaminant (Graeter, 1996). De plus, ces altérations (l'augmentation du MDA et la dérégulation des enzymes antioxydantes) peuvent être expliquer par l'augmentation des concentrations de GLP au niveau du foie provenant du lait maternel. A l'âge adulte et après une longue durée d'intoxication au GLP nous avons montré une augmentation de la peroxydation lipidique et un effet sur la GPx, la CAT et la SOD. Dans le même sens, une étude récente a montré une altération du système antioxydant du foie chez les animaux exposés au glyphosate : l'augmentation de la GPX, MDA et un effet sur la catalase (CAT) et de la SOD (Fu et al., 2020) . En effet, le foie est considéré comme étant le premier point cible des intoxications alimentaires. A cet égard , il faut noter que le glyphosate induirait un stress oxydatif hépatique, en augmentant de la perméabilité de la membrane mitochondriale aux protons et au ions Ca^{2+} (Astiz et al., 2009). Le Ca^{2+} est considéré comme l'un des principaux stimulateurs des ERO mitochondriaux et favorise les altérations structurelles de la membrane mitochondriale interne. A noter aussi que l'exposition au GLP a causé un stress oxydatif dans les tissus hépatiques (Tang et al., 2017).

Au niveau rénal, des études antérieurs ont montré que le GLP s'accumule dans les reins et peut provoquer un stress oxydatif et des lésions des tissus rénaux (Li et al., 2017). Dans la présente étude la toxicité induite par le GLP est démontrée durant la période de développement et à l'âge adulte. Ceci est prouvé par une altération du système antioxydant menant par conséquent à une augmentation significative du taux de la peroxydation lipidique durant la période d'allaitement et à l'âge adulte. Nos résultats ont montré un effet sur le système enzymatique antioxydant SOD et GPx dans les jours PN5, PN10, PN15 et PN21 et au jour PN5 pour la CAT. Par contre, Nous n'avons pas observé de différence significative de la GST chez les souriceaux traités par rapport aux témoins. En revanche, nous avons confirmé un effet persistant de la SOD à l'âge adulte. L'activité de la SOD dans cette étude, généralement sont régulée négativement dans les reins, ce qui va déclencher une peroxydation lipidique au niveau rénal, révélée par l'augmentation du taux de MDA durant la période d'allaitement et à l'âge adulte. Nos résultats

sont en accord avec d'autre étude chez le rat qui ont rapporté que le GLP induirait un stress oxydatif dans les tissus rénaux (Tang et al., 2017). De plus, il a été rapporté que l'exposition chronique de glyphosate provoque des perturbations significatives dans le système enzymatique antioxydant (augmentation du niveau de MDA et diminution des niveaux de SOD), et aussi des altérations dans les réseaux métaboliques internes des tissus rénaux (Li et al., 2017). Un lien entre les maladies rénales chroniques et le glyphosate a été suggéré (Gunarathna et al., 2018).

Effets du GLP sur le stress oxydatif dans les testicules.

L'augmentation du taux de MDA et le trouble des activités enzymatiques antioxydantes dans les testicules des souris adultes exposées au GLP que nous avons mis dans la présente étude peuvent pourrait être expliqué par l'induction de stress oxydatif suite à l'intoxication au GLP.

En effet, le glyphosate a induit la production de ROS dans les testicules des souris exposées, et par conséquent a entraîné la peroxydation des acides gras polyinsaturés dans la membrane des testicules, ce qui a conduit à la formation de MDA, l'un des sous-produits de la peroxydation lipidique. Nous avons également rapporté un effet significatif de la SOD et de la GPx au niveau des testicules chez les souris traitées par rapport aux témoins. Ceci est due probablement au déclenchement du stress oxydatif testiculaire par le GLP (Astiz et al., 2009). Nos résultats sont en accord avec les travaux de Owagboriaye et al., (2017) qui a rapporté que l'exposition pré pubertaire au glyphosate modifie les niveaux de testostérone et la morphologie testiculaire (Romano et al., 2010). Cette dérégulation des enzymes antioxydantes et la peroxydation lipidique élevée observée chez les souris traitées peuvent conduire à des perturbations endocriniennes engendrant des lésions testiculaires et la diminution de la spermatogénèse (Horak et al., 2021). Dans ce sens, le glyphosate inhibe les cytochromes P450 dans la cellule humaine et celle du rat (Hietanen et al., 1983), ce qui pourrait induire des effets sur le système endocriniens (Richard et al., 2005). la motilité progressive des spermatozoïdes humains a également été altérée par le GLP (Anifandis et al., 2018). D'autres études ont rapporté également une diminution des concentrations de spermatozoïdes suite à l'intoxication par le GLP (Cai et al., 2017).

Conclusion générale

En conclusion, l'exposition subchronique et chronique au glyphosate pendant la gestation, l'allaitement et à l'âge adulte produit des altérations du développement des réflexes néonataux, neurocomportementaux, du processus d'apprentissage, de la mémoire, ainsi qu'une augmentation du niveau d'anxiété chez la souris adulte.

Ainsi, nos résultats fournissent de nouvelles preuves qu'une exposition des souriceaux à des doses faibles du GLP durant la période de la gestation et d'allaitement induirait des altérations du développement sensorimoteur. De plus, nous avons également mis en évidence des troubles du comportement maternel suite au manque d'interactions entre les femelles et leurs progénitures.

L'exposition à des faibles doses du GLP pendant la gestation et l'allaitement augmente le niveau d'anxiété et réduit le comportement social chez la progéniture des souris. Nous avons montré également une altération des activités enzymatiques de la SOD, de la GPX, de la GST et de la CAT et non enzymatiques ; le MDA. L'ensemble de ces perturbations induit un stress oxydatif au niveau central et périphérique.

Au niveau cérébral, l'exposition prénatale et postnatale du GLP a engendré une augmentation de la peroxydation lipidique au niveau de l'hippocampe, de l'hypothalamus, une dérégulation des enzymes antioxydantes (SOD, GPX, GST et CAT), une inhibition de l'AChE (dans l'hippocampe et le cervelet) et qui peuvent être à l'origine du retard neurodéveloppementale et des anomalies comportementales liées à l'anxiété et à la mémoire chez les souriceaux et à l'âge adulte.

Au niveau périphérique, le GLP a induit un stress oxydatif au niveau hépatique et rénal chez les souriceaux et au stade adulte suite un taux élevé de la peroxydation lipidique et une instabilité de réponse de la défense du système antioxydant, témoignant un effet toxique sur le foie et les reins (les organes de détoxifications). Nos résultats au niveau testiculaire ont montré une augmentation du taux de la peroxydation lipidique et une altération des enzymes antioxydantes chez les souris adultes traitées. Ce qui pourrait induire un effet toxique et des perturbations de la reproduction.

Dans l'ensemble, les résultats obtenus dans notre étude montrent que le GLP exerce sa neurotoxicité en perturbant le système cholinergique en particulier via l'inhibition de l'acétylcholinestérase dans les différentes structures cérébrales et en altérant les activités enzymatiques du système antioxydant ce qui pourrait induire des déficits neurologiques à l'âge

adulte a savoir une altération de la mémoire, un état d'anxiété, un déficit de l'interaction social et des troubles sensorimoteurs durant le stade du développement .

Perspectives

- L'évaluation des effets subchronique et chroniques du GLP chez la souris de sexe femelle.
- Doser le GLP dans le cerveau, foie, reins et les testicules au cours de la gestation, l'allaitement et après sevrage.
- Évaluation des paramètres biochimiques, hématologiques et hormonaux chez les souris exposées au GLP.
- L'étude histologique au niveau des organes centraux et périphériques.
- Viser le système sérotoninergique, en particulier via les 5HT1A.
- Explorer l'état du transporteur du glutamate par immunohistochimie western blot au niveau cérébral.
- Effets de l'exposition des souris au GLP dans l'eau potable : dosage des marqueurs du stress oxydatif dans l'intestin grêle.

Références

- A., Yousef, & Freed, M. and V. H. (1987). DEGRADATION OF THE HERBICIDES BROMACIL, DIURON AND CHLORTOLURON IN SOIL. *Chemosphere*, 43(21), 1003–1011.
- A, E.-D., & Yousef, M. I. (2001). . Influence of paraquat, glyphosate, and cadmium on the activity of some serum enzymes and protein electrophoretic behavior (in vitro). *Journal of Environmental Science & Health, Part B*, 36, 29–42.
- Aardema, H., Meertens, J. H. J. M., Ligtenberg, J. J. M., Peters-Polman, O. M., Tulleken, J. E., & Zijlstra, J. G. (2008). *organophosphorus pesticide poisoning: cases and developments*.
- Abele, D., Heise, K., Pörtner, H. O., & Puntarulo, S. (2002). Temperature-dependence of mitochondrial function and production of reactive oxygen species in the intertidal mud clam *Mya arenaria*. *Journal of Experimental Biology*, 205(13), 1831–1841. <https://doi.org/10.1006/fsim.1997.0094>
- Aebi, H. (1974). Catalase. In *Methods of Enzymatic Analysis* (Vol. 14, Issue 4, pp. 673–684). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-091302-2.50032-3>
- Aerts, R., Van Overmeire, I., Colles, A., Andjelković, M., Malarvannan, G., Poma, G., Den Hond, E., Van de Mierop, E., Dewolf, M. C., Charlet, F., Van Nieuwenhuysse, A., Van Loco, J., & Covaci, A. (2019). Determinants of persistent organic pollutant (POP) concentrations in human breast milk of a cross-sectional sample of primiparous mothers in Belgium. *Environment International*, 131(June). <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.104979>
- Ait-Bali, Y., Ba-M'hamed, S., Gambarotta, G., Sassoè-Pognetto, M., Giustetto, M., & Bennis, M. (2020). Pre- and postnatal exposure to glyphosate-based herbicide causes behavioral and cognitive impairments in adult mice: evidence of cortical and hippocampal dysfunction. *Archives of Toxicology*, 94(5), 1703–1723. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02677-7>
- Ait bali, Y., Kaikai, N., Ba-m, S., & Bennis, M. (2019). Learning and memory impairments associated to acetylcholinesterase inhibition and oxidative stress following glyphosate based-herbicide exposure in mice Authors: *Toxicology*. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2019.01.010>
- Aitbali, Y., Ba-M'hamed, S., Elhidar, N., Nafis, A., Soraa, N., & Bennis, M. (2018). Glyphosate based- herbicide exposure affects gut microbiota, anxiety and depression-like behaviors in

- mice. *Neurotoxicology and Teratology*, 67(March), 44–49. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2018.04.002>
- Alarcón, R., Ingaramo, P. I., Rivera, O. E., Dioguardi, G. H., Repetti, M. R., Demonte, L. D., Milesi, M. M., Varayoud, J., Muñoz-de-Toro, M., & Luque, E. H. (2019). Neonatal exposure to a glyphosate-based herbicide alters the histofunctional differentiation of the ovaries and uterus in lambs. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 482(December), 45–56. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2018.12.007>
- Aloizou, A. M., Siokas, V., Sapouni, E. M., Sita, N., Liampas, I., Brotis, A. G., Rakitskii, V. N., Burykina, T. I., Aschner, M., Bogdanos, D. P., Tsatsakis, A., Hadjigeorgiou, G. M., & Dardiotis, E. (2020). Parkinson's disease and pesticides: Are microRNAs the missing link? In *Science of the Total Environment* (Vol. 744, p. 140591). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140591>
- Alothman, M., Ispas-Szabo, P., & Mateescu, M. A. (2021). Design of catalase monolithic tablets for intestinal targeted delivery. *Pharmaceutics*, 13(1), 1–16. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13010069>
- Altman, J., & Sudarshan, K. (1975). Postnatal development of locomotion in the laboratory rat. *Animal Behaviour*, 23(PART 4), 896–920. [https://doi.org/10.1016/0003-3472\(75\)90114-1](https://doi.org/10.1016/0003-3472(75)90114-1)
- Ambolet-Camoit, A., Kim, M. J., Leblanc, A., & Aggerbeck, M. (2012). Les polluants organiques persistants: Implication dans l'obésité et le syndrome métabolique. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 47(4), 183–192. <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2012.03.002>
- Amir Miodovnik, M. (2011). Environmental Neurotoxicants and Developing Brain. *MOUNT SINAI JOURNAL OF MEDICINE*, 78, 58–77. <https://doi.org/10.1002/MSJ>
- Andersen, H. R., Nielsen, J. B., & Grandjean, P. (2000). Toxicologic evidence of developmental neurotoxicity of environmental chemicals. *Toxicology*, 144(1–3), 121–127. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(99\)00198-5](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(99)00198-5)
- Anifandis, G., Katsanaki, K., Lagodonti, G., Messini, C., Simopoulou, M., Dafopoulos, K., & Daponte, A. (2018). The effect of glyphosate on human sperm motility and sperm DNA fragmentation. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(6). <https://doi.org/10.3390/ijerph15061117>
- Anses. (2011). *Étude de l'alimentation totale française 2 (EAT 2) Tome 2 - Résidus de*

- pesticides, additifs, acrylamide, hydrocarbures aromatiques polycycliques*. 2(Eat 2), 1–405.
- Antón, F. A., Laborda, E., & de Ariz, M. (1994). Acute toxicity of the herbicide glyphosate to fish. *Chemosphere*, 28(4), 745–753. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(94\)90228-3](https://doi.org/10.1016/0045-6535(94)90228-3)
- Antunes, M., & Biala, G. (2012). The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. *Cognitive Processing*, 13(2), 93–110. <https://doi.org/10.1007/s10339-011-0430-z>
- Asada, K., Takahashi, M., & Nagate, M. (1974). Assay and Inhibitors of Spinach Superoxide Dismutase. *Agricultural and Biological Chemistry*, 38(2), 471–473. <https://doi.org/10.1080/00021369.1974.10861178>
- Astiz, M, Alaniz, M. de, & Marra, C. (2009). Système de défense antioxydant chez les rats intoxiqués simultanément par des produits agrochimiques. *Toxicologie Environnementale Et*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1382668909001392>
- Astiz, Mariana, Alaniz, M. J. T. d., & Marra, C. A. (2009). Effect of pesticides on cell survival in liver and brain rat tissues. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(7), 2025–2032. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.05.001>
- Bach, N. C., Marino, D. J. G., Natale, G. S., & Somoza, G. M. (2018). Effects of glyphosate and its commercial formulation, Roundup® Ultramax, on liver histology of tadpoles of the neotropical frog, *Leptodactylus latrans* (amphibia: Anura). *Chemosphere*, 202, 289–297. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.110>
- Baier, C. J., Gallegos, C. E., Raisman-, R., & Minetti, A. (2017). Behavioral impairments following repeated intranasal glyphosatebased herbicide administration in mice. *Neurotoxicology and Teratology*, October. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2017.10.004>
- Baillie, J. K., Bates, M. G. D., Thompson, A. A. R., Waring, W. S., Partridge, R. W., Schnopp, M. F., Simpson, A., Gulliver-Sloan, F., Maxwell, S. R. J., & Webb, D. J. (2007). Endogenous urate production augments plasma antioxidant capacity in healthy lowland subjects exposed to high altitude. *Chest*, 131(5), 1473–1478. <https://doi.org/10.1378/chest.06-2235>
- Bali, Y. A., Ba-mhamed, S., & Bennis, M. (2017). *Behavioral and Immunohistochemical Study of the Effects of Subchronic and Chronic Exposure to Glyphosate in Mice*. 11(August), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00146>

- Bandyopadhyay, M., Chakraborty, R., & Raychaudhuri, U. (2007). A process for preparing a natural antioxidant enriched dairy product (Sandesh). *LWT - Food Science and Technology*, 40(5), 842–851. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.05.007>
- Barbosa, E. R., Leiros da Costa, M. D., Bacheschi, L. A., Scaff, M., & Leite, C. C. (2001). Speech Dysfluency Exacerbated by Levodopa in Parkinson's Disease. *Clinical / Scientific Notes*, 16(3), 562–581.
- Barouki, R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Médecine/Sciences*, 22(3), 266–272. <https://doi.org/10.1051/medsci/2006223266>
- Barton, H. A. (2005). Computational pharmacokinetics during developmental windows of susceptibility. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A*, 68(11–12), 889–900. <https://doi.org/10.1080/15287390590912180>
- Battaglin, W. A., Meyer, M. T., Kuivila, K. M., & Dietze, J. E. (2014). Glyphosate and its degradation product AMPA occur frequently and widely in U.S. soils, surface water, groundwater, and precipitation. *Journal of the American Water Resources Association*, 50(2), 275–290. <https://doi.org/10.1111/jawr.12159>
- Baudin, B. (2020). Doser les enzymes du stress oxydant, oui ou non ? *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2020(522), 62–65. [https://doi.org/10.1016/s1773-035x\(20\)30164-7](https://doi.org/10.1016/s1773-035x(20)30164-7)
- Belaich, R., & Boujraf, S. (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Medecine Des Maladies Metaboliques*, 10(1), 38–42. [https://doi.org/10.1016/S1957-2557\(16\)30009-8](https://doi.org/10.1016/S1957-2557(16)30009-8)
- Benachour, N., Clair, E., Mesnage, R., & Séralini, G.-E. (2012). Endocrine Disruptors: New discoveries and possible progress of evaluation. In *Advances in Medicine and Biology* (Vol. 29, Issue 0).
- Benedetti, A. L., Vituri, C. de L., Trentin, A. G., Domingues, M. A. C., & Alvarez-Silva, M. (2004). The effects of sub-chronic exposure of Wistar rats to the herbicide Glyphosate-Biocarb®. *Toxicology Letters*, 153(2), 227–232. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2004.04.008>
- BERARD, A., & PELTE, T. (1996). *Effets de l'atrazine sur l'évolution des peuplements phytoplanctoniques lacustres* (pp. 195–201).
- Berghuis, S. A., Van Braeckel, K. N. J. A., Sauer, P. J. J., & Bos, A. F. (2018). Prenatal exposure

- to persistent organic pollutants and cognition and motor performance in adolescence. *Environment International*, 121(August), 13–22. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.08.030>
- Beth, C. G., & Rogan, W. J. (2000). d exposure to polychlorinated biphenyls and Liphenyl dichloroethene. *THE JOURNAL OF PEDIATRICS*, 136, 491–496. <https://doi.org/10.1067/mpd.2000.103505>
- Beuret, C. J., Zirulnik, F., & Giménez, M. S. (2005). Effect of the herbicide glyphosate on liver lipoperoxidation in pregnant rats and their fetuses. *Reproductive Toxicology*, 19(4), 501–504. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2004.09.009>
- Bignall, K. E. (1974). Ontogeny of levels of neural organization: The righting reflex as a model. *Experimental Neurology*, 42(3), 566–573. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(74\)90079-X](https://doi.org/10.1016/0014-4886(74)90079-X)
- Bloomer, R. J. (2004). Effects of Antioxidant Therapy in Women Exposed to Eccentric Exercise. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 14, 377–388.
- Brenneisen, P., Steinbrenner, H., & Sies, H. (2005). Selenium, oxidative stress, and health aspects. *Molecular Aspects of Medicine*, 26(4-5 SPEC. ISS.), 256–267. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.004>
- Brunetti, R., Maradey, J. A., Dearmin, R. S., Belford, P. M., & Bhave, P. D. (2020). Electrocardiographic abnormalities associated with acute glyphosate toxicity. *HeartRhythm Case Reports*, 6(2), 63–66. <https://doi.org/10.1016/j.hrcr.2019.10.014>
- Buszewski, B., Bukowska, M., Ligor, M., & Staneczko-Baranowska, I. (2019). A holistic study of neonicotinoids neuroactive insecticides—properties, applications, occurrence, and analysis. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(34), 34723–34740. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06114-w>
- Cai, W., Ji, Y., Song, X., Guo, H., Han, L., Zhang, F., Liu, X., Zhang, H., Zhu, B., & Xu, M. (2017). Effects of glyphosate exposure on sperm concentration in rodents: A systematic review and meta-analysis. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 55, 148–155. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2017.07.015>
- Carola, V., D'Olimpio, F., Brunamonti, E., Mangia, F., & Renzi, P. (2002). Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behavioural Brain Research*, 134(1–2), 49–57. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(01\)00452-1](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(01)00452-1)

- Carrière, A., Galinier, A., Fernandez, Y., Carmona, M.-C., Pénicaud, L., & Casteilla, L. (2006). Les espèces actives de l'oxygène: le yin et le yang de la mitochondrie. *Médecine/Sciences*, 22(1), 47–53. <https://doi.org/10.1051/medsci/200622147>
- Cattaneo, R., Clasen, B., Loro, V. L., De Menezes, C. C., Pretto, A., Baldisserotto, B., Santi, A., & De Avila, L. A. (2011). Toxicological responses of *Cyprinus carpio* exposed to a commercial formulation containing glyphosate. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 87(6), 597–602. <https://doi.org/10.1007/s00128-011-0396-7>
- Cattani, D., Cesconetto, P. A., Tavares, M. K., Parisotto, E. B., De Oliveira, P. A., Rieg, C. E. H., Leite, M. C., Prediger, R. D. S., Wendt, N. C., Razzera, G., Filho, D. W., & Zamoner, A. (2017). Developmental exposure to glyphosate-based herbicide and depressive-like behavior in adult offspring: Implication of glutamate excitotoxicity and oxidative stress. *Toxicology*, 387(February), 67–80. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2017.06.001>
- Cattani, D., de Liz Oliveira Cavalli, V. L., Heinz Rieg, C. E., Domingues, J. T., Dal-Cim, T., Tasca, C. I., Mena Barreto Silva, F. R., & Zamoner, A. (2014). Mechanisms underlying the neurotoxicity induced by glyphosate-based herbicide in immature rat hippocampus: Involvement of glutamate excitotoxicity. *Toxicology*, 320(1), 34–45. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2014.03.001>
- Cattani, D., Struyf, N., Steffensen, V., Bergquist, J., Zamoner, A., Brittebo, E., & Andersson, M. (2021). Perinatal exposure to a glyphosate-based herbicide causes dysregulation of dynorphins and an increase of neural precursor cells in the brain of adult male rats. *Toxicology*, 461(August), 152922. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2021.152922>
- Cerdeira, A. L., Gazziero, D. L. P., Duke, S. O., Matallo, M. B., & Spadotto, C. A. (2007). Review of potential environmental impacts of transgenic glyphosate-resistant soybean in Brazil. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 42(5), 539–549. <https://doi.org/10.1080/03601230701391542>
- Chandrasekaran, A., Idelchik, M. del P. S., & Melendez, J. A. (2017). Redox control of senescence and age-related disease. *Redox Biology*, 11(November 2016), 91–102. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.11.005>
- Chen, Z., Huang, C., & Ding, W. (2016). Z-Guggulsterone Improves the Scopolamine-Induced Memory Impairments Through Enhancement of the BDNF Signal in C57BL/6J Mice. *Neurochemical Research*, 41(12), 3322–3332. <https://doi.org/10.1007/s11064-016-2064->

- Christian Le Coz, B. T., & Thevenot, D. (2015). Transfert des polluants dans les hydrosystèmes : Actes des sixièmes journées du Diplôme d'études approfondies Sciences et techniques de l'environnement, organisées les 11 et 12 mai 1995 à Créteil et Paris. In *HAL open science*.
- Clair, É., Mesnage, R., Travert, C., & Séralini, G. É. (2012). A glyphosate-based herbicide induces necrosis and apoptosis in mature rat testicular cells in vitro, and testosterone decrease at lower levels. *Toxicology in Vitro*, *26*(2), 269–279. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2011.12.009>
- Clausing, P. (2015). *The 31 August 2015 Addendum to the Renewal Assessment Report on Glyphosate - A critical analysis*. <http://www.mdr.de/fakt/fakt-glyphosat-bfr-bewertung102.html>
- Cohen, H., Matar, M. A., & Joseph, Z. (2013). Animal Models of Post-Traumatic Stress Disorder. *Current Protocols in Neuroscience*, *64*(1), 9.45.1-9.45.18. <https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0945s64>
- Commoner, B., Townsend, J., & Pake, G. E. (1954). Free radicals in biological materials. *Nature*, *174*(4432), 689–691. <https://doi.org/10.1038/174689a0>
- Connor, M. S., Davis, J. A., Leatherbarrow, J., Greenfield, B. K., Gunther, A., Hardin, D., Mumley, T., Oram, J. J., & Werme, C. (2007). The slow recovery of San Francisco Bay from the legacy of organochlorine pesticides. *Environmental Research*, *105*(1), 87–100. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2006.07.001>
- Contreras, C. M., Rodríguez-Landa, J. F., García-Ríos, R. I., Cueto-Escobedo, J., Guillen-Ruiz, G., & Bernal-Morales, B. (2014). Myristic Acid Produces Anxiolytic-Like Effects in Wistar Rats in the Elevated Plus Maze. *BioMed Research International*, *2014*. <https://doi.org/10.1155/2014/492141>
- Cortese, B. M., & Phan, K. L. (2005). The role of glutamate in anxiety and related disorders. *CNS Spectrums*, *10*(10), 820–830. <https://doi.org/10.1017/S1092852900010427>
- Coullery P., R., Ferrari, M. E., & Rosso, S. B. (2016). Neuronal development and axon growth are altered by glyphosate through a WNT non-canonical signaling pathway. *NeuroToxicology*, *52*, 150–161. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2015.12.004>

- Coullery, R., Pacchioni, A. M., & Rosso, S. B. (2020). Exposure to glyphosate during pregnancy induces neurobehavioral alterations and downregulation of Wnt5a-CaMKII pathway. *Reproductive Toxicology*, 96(August), 390–398. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2020.08.006>
- Crawley, J. N. (2004). Designing mouse behavioral tasks relevant to autistic-like behaviors. In *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews* (Vol. 10, Issue 4, pp. 248–258). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/mrdd.20039>
- Curtin, J. F., Donovan, M., & Cotter, T. G. (2002). Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis. *Journal of Immunological Methods*, 265(1–2), 49–72. [https://doi.org/10.1016/S0022-1759\(02\)00070-4](https://doi.org/10.1016/S0022-1759(02)00070-4)
- Curtis, K.M., Savitz, D.A., Weinberg, C.R., Arbuckle, T. E. (1999). The Effect of Pesticide Exposure on Time to Pregnancy. *Epidemiology*, 10(2), 112–117.
- CURTIS, D. R., & Phillis, J. W. J. C. W. (1960). THE CHEMICAL EXCITATION OF SPINAL NEURONES BY CERTAIN ACIDIC AMINO ACIDS. *J. Physiol.*, 150, 656–682.
- D’Apolito, K. (2013). Breastfeeding and substance abuse. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 56(1), 202–211. <https://doi.org/10.1097/GRF.0b013e31827e6b71>
- D, B.-R. (2003). Radicaux libres et antioxydants. *Delattre J., Durand G., Jardillier J-C. Biochimie Pathologique. Flammarion*, 5, 4–118.
- da Costa Estrela, D., da Silva, W. A. M., Guimarães, A. T. B., de Oliveira Mendes, B., da Silva Castro, A. L., da Silva Torres, I. L., & Malafaia, G. (2015). Predictive behaviors for anxiety and depression in female Wistar rats subjected to cafeteria diet and stress. *Physiology and Behavior*, 151, 252–263. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.07.016>
- Dai, P., Hu, P., Tang, J., Li, Y., & Li, C. (2016). Effect of glyphosate on reproductive organs in male rat. *Acta Histochemica*, 118(5), 519–526. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2016.05.009>
- Darnaudéry, M., Perez-Martin, M., Del Favero, F., Gomez-Roldan, C., Garcia-Segura, L. M., & Maccari, S. (2007). Early motherhood in rats is associated with a modification of hippocampal function. *Psychoneuroendocrinology*, 32(7), 803–812. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2007.05.012>

- Darvesh, S., Darvesh, K. V., McDonald, R. S., Mataija, D., Walsh, R., Mothana, S., Lockridge, O., & Martin, E. (2008). Carbamates with differential mechanism of inhibition toward acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. *Journal of Medicinal Chemistry*, *51*(14), 4200–4212. <https://doi.org/10.1021/jm8002075>
- David C. Dorman. (2001). Methods to identify and characterize developmental neurotoxicity for human health risk assessment. I: Behavioral effects. *Environmental Health Perspectives*, *109*(SUPPL. 1), 79–91. <https://doi.org/10.1289/ehp.01109s179>
- Davis, W., Ronai, Z. E. E. V, & Tew, K. D. (2001). Cellular Thiols and Reactive Oxygen Species in Drug-Induced Apoptosis. *THE JOURNAL OF PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEUTICS*, *296*(1)(February), 1–6.
- De Liz Oliveira Cavalli, V. L., Cattani, D., Heinz Rieg, C. E., Pierozan, P., Zanatta, L., Benedetti Parisotto, E., Wilhelm Filho, D., Mena Barreto Silva, F. R., Pessoa-Pureur, R., & Zamoner, A. (2013). Roundup disrupts male reproductive functions by triggering calcium-mediated cell death in rat testis and Sertoli cells. *Free Radical Biology and Medicine*, *65*, 335–346. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.06.043>
- Debouge, M. H., Thome, J. P., & Jeuniaux, C. (1987). Bioaccumulation de trois insecticides organochlores (Lindane, Dieldrine et DDT) et des PCB chez plusieurs especes de fourmis [Hymenoptera-formicidae] en Belgique. *Entomophaga*, *32*(5), 551–561. <https://doi.org/10.1007/BF02373524>
- Dechartres, J., Pawluski, J. L., Gueguen, M. M., Jablaoui, A., Maguin, E., Rhimi, M., & Charlier, T. D. (2019). Glyphosate and glyphosate-based herbicide exposure during the peripartum period affects maternal brain plasticity, maternal behaviour and microbiome. In *Journal of Neuroendocrinology* (Vol. 31, Issue 9). <https://doi.org/10.1111/jne.12731>
- Densiov E.T., A. I. B. (2005). Oxidation and Antioxidants in Organic Chemistry and Biology. *Taylor & Francis Group*, 703–861. <http://publications.lib.chalmers.se/records/fulltext/245180/245180.pdf><https://hdl.handle.net/20.500.12380/245180><http://dx.doi.org/10.1016/j.jsames.2011.03.003><https://doi.org/10.1016/j.gr.2017.08.001><http://dx.doi.org/10.1016/j.precamres.2014.12>
- Derkaoui, A., Elbouazzaoui, A., Elhouari, N., Achour, S., Labib, S., Sbai, H., Harrandou, M., Khatouf, M., & Kanjaa, N. (2011). Intoxication aiguë sévère par les pesticides

- organophosphores: À propos de 28 cas. *Pan African Medical Journal*, 8(16), 1937–8688.
<https://doi.org/10.4314/pamj.v8i1.71067>
- Dill, G. M., CaJacob, C. A., & Padgette, S. R. (2008). Glyphosate-resistant crops: adoption, use and future considerations. *Pest Management Science*, 64(4), 326–331.
<https://doi.org/10.1002/ps.1501>
- Dröge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82(1), 47–95. <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2001>
- Du-Carrée, J. Le, Morin, T., & Danion, M. (2021). Impact of chronic exposure of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, to low doses of glyphosate or glyphosate-based herbicides. *Aquatic Toxicology*, 230(November 2020). <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105687>
- Duarte, T. L., & Jones, G. D. D. (2007). Vitamin C modulation of H₂O₂-induced damage and iron homeostasis in human cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 43(8), 1165–1175.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.07.017>
- Dubovický, M., Kovačevský, P., Ujházy, E., Navarová, J., Brucknerová, I., & Mach, M. (2008). Evaluation of developmental neurotoxicity: Some important issues focused on neurobehavioral development. *Interdisciplinary Toxicology*, 1(3–4), 206–210.
<https://doi.org/10.2478/v10102-010-0042-y>
- Durand, R., Bouvresse, S., Berdjane, Z., Izri, A., Chosidow, O., & Clark, J. M. (2012). Résistance aux insecticides du pou de tête: Aspects cliniques, parasitologiques et génétiques. *Journal Des Anti-Infectieux*, 14(3), 136–142.
<https://doi.org/10.1016/j.antinf.2012.07.003>
- Duty, S. (2010). Therapeutic potential of targeting group III metabotropic glutamate receptors in the treatment of Parkinson's disease. *British Journal of Pharmacology*, 161(2), 271–287. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.00882.x>
- E.L.Naylor, R. (2002). Weed Management Handbook. In *Weed Management Handbook*.
<https://doi.org/10.1002/9780470751039>
- Eker, S., Ozturk, L., Yazici, A., Erenoglu, B., Romheld, V., & Cakmak, I. (2006). Foliar-Applied Glyphosate Substantially Reduced Uptake and Transport of Iron and Manganese in Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Plants. *ACS Publications*, 54(26), 10019–10025.
<https://doi.org/10.1021/jf0625196>

- El-Shenawy, N. S. (2009). Oxidative stress responses of rats exposed to Roundup and its active ingredient glyphosate. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 28(3), 379–385. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2009.06.001>
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88–95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
- Engel, L. S., Werder, E., Satagopan, J., Blair, A., Hoppin, J. A., Koutros, S., Lerro, C. C., Sandler, D. P., Alavanja, M. C., & Beane Freeman, L. E. (2017). Insecticide Use and Breast Cancer Risk among Farmers' Wives in the Agricultural Health Study. *Environmental Health Perspectives*, 125(9), 097002. <https://doi.org/10.1289/EHP1295>
- Équiterre. (2014). Document d'information : le glyphosate , omniprésent et inquiétant. *Association Canadienne Des Médecins Pour l'environnement*, 4–5.
- ESTERBAUER, H. (1992). THE ROLE OF LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANTS IN OXIDATIVE MODIFICATION OF LDL. *Free Rad. Biol. Med*, 13, 341–390.
- Fagan, J., Bohlen, L., Patton, S., & Klein, K. (2020). Organic diet intervention significantly reduces urinary glyphosate levels in U.S. children and adults. *Environmental Research*, 189, 109898. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109898>
- Fagan, J., Leifert, C., Fagan, J. B., Antoniou, M., Habib, M., Howard, C. V, Jennings, R. C., Leifert, C., Nodari, R. O., Robinson, C. J., & Fagan, J. (2012). Teratogenic Effects of Glyphosate-Based Herbicides: Divergence of Regulatory Decisions from Scientific Evidence. *J Environ Anal Toxicol*, 4, 6. <https://doi.org/10.4172/2161-0525.S4-006>
- Fahl, G. M., Kreft, L., Altenburger, R., Faust, M., Boedeker, W., & Grimme, L. H. (1995). pH-Dependent sorption, bioconcentration and algal toxicity of sulfonylurea herbicides. *Aquatic Toxicology*, 31(2), 175–187. [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(94\)00067-Z](https://doi.org/10.1016/0166-445X(94)00067-Z)
- Fan, A. M. (2014). Triazines. In *Encyclopedia of Toxicology* (pp. 810–815). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.01066-6>
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualite Chimique*, 11–12, 108–115.
- Fenichel, P., Brucker-Davis, F., & Chevalier, N. (2016). Perturbateurs endocriniens -

- Reproduction et cancers hormono-dépendants. In *Presse Medicale* (Vol. 45, Issue 1, pp. 63–72). Elsevier Masson SAS. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2015.10.017>
- Fernández-Ortuño, D., Torés, J. A., De Vicente, A., & Pérez-García, A. (2008). Mechanisms of resistance to QoI fungicides in phytopathogenic fungi. *International Microbiology*, *11*(1), 1–9. <https://doi.org/10.2436/20.1501.01.38>
- Ferreira, A. C. A., Bruno, J. B., Maside, C., Sousa, F. G. C., Cibin, F. W. S., Alves, B. G., Rodrigues, A. P. R., Gastal, E. L., & Figueiredo, R. (2019). *Anethole Supplementation During Oocyte Maturation Improves In Vitro Production of Bovine Embryos*. 1602–1608. <https://doi.org/10.1007/s43032-020-00190-x>
- Finaud, J., Lac, G., & Filaire, E. (2006). Oxidative stress: Relationship with exercise and training. *Sports Medicine*, *36*(4), 327–358. <https://doi.org/10.2165/00007256-200636040-00004>
- Flohé, L., & Günzler, W. A. (1984). [12] Assays of glutathione peroxidase. In *Methods in Enzymology* (Vol. 105, Issue C, pp. 114–120). [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05015-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05015-1)
- Forsythe, P. (2014). *Vagal Pathways for Microbiome-Brain-Gut Axis Communication*. 1–17. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0897-4>
- Fox, W. M. (1965). Reflex-ontogeny and behavioural development of the mouse. *Animal Behaviour*, *13*(2–3). [https://doi.org/10.1016/0003-3472\(65\)90041-2](https://doi.org/10.1016/0003-3472(65)90041-2)
- Freinbichler, W., Colivicchi, M. A., Stefanini, C., Bianchi, L., Ballini, C., Misini, B., Weinberger, P., Linert, W., Varešlija, D., Tipton, K. F., & Della Corte, L. (2011). Highly reactive oxygen species: Detection, formation, and possible functions. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *68*(12), 2067–2079. <https://doi.org/10.1007/s00018-011-0682-x>
- Frisvold, G. B., Hurley, T. M., & Mitchell, P. D. (2009). Overview: Herbicide resistant crops—diffusion, benefits, pricing, and resistance management. *AgBioForum*, *12*(3–4), 244–248.
- Fu, H., Qiu, S., Yao, X., Gao, F., Tan, P., Teng, T., & Shi, B. (2020). Toxicity of glyphosate in feed for weanling piglets and the mechanism of glyphosate detoxification by the liver nuclear receptor CAR/PXR pathway. *Journal of Hazardous Materials*, *387*, 121707. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121707>
- Funes, V., Alhama, J., Navas, J. I., López-Barea, J., & Peinado, J. (2006). Ecotoxicological

- effects of metal pollution in two mollusc species from the Spanish South Atlantic littoral. *Environmental Pollution*, 139(2), 214–223. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.05.016>
- Furness, J. B., Callaghan, B. P., Rivera, L. R., & Cho, H. J. (2014). The enteric nervous system and gastrointestinal innervation: Integrated local and central control. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 817). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0897-4_3
- Fusco, D., Colloca, G., Lo Monaco, M. R., & Cesari, M. (2007). Effects of antioxidant supplementation on the aging process. *Clinical Interventions in Aging*, 2(3), 377–387.
- Gallegos, C. E., Bartos, M., Bras, C., Gumilar, F., Antonelli, M. C., & Minetti, A. (2016). Exposure to a glyphosate-based herbicide during pregnancy and lactation induces neurobehavioral alterations in rat offspring. *NeuroToxicology*, 53, 20–28. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2015.11.015>
- Gallegos, Eugenia, C., Baier, C. J., Bartos, M., Bras, C., Domínguez, S., Mónaco, N., Gumilar, F., Giménez, M. S., & Minetti, A. (2018). Perinatal Glyphosate-Based Herbicide Exposure in Rats Alters Brain Antioxidant Status, Glutamate and Acetylcholine Metabolism and Affects Recognition Memory. *Neurotoxicity Research*, 34(3), 363–374. <https://doi.org/10.1007/s12640-018-9894-2>
- Ganesan, S., & Keating, A. F. (2020). Ovarian mitochondrial and oxidative stress proteins are altered by glyphosate exposure in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 402(June), 115116. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2020.115116>
- Ganesan, S., McGuire, B. C., & Keating, A. F. (2020). Absence of glyphosate-induced effects on ovarian folliculogenesis and steroidogenesis. In *Reproductive Toxicology* (Vol. 96). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2020.06.011>
- Garrel, C., Ceballos-picot, I., & Germain, G. U. Y. (2007). *Oxidative stress-inducible antioxidant adaptive response during prostaglandin F₂ a -induced luteal cell death in vivo*. 41(March), 251–259. <https://doi.org/10.1080/10715760601067493>
- Gascon, M., Morales, E., Sunyer, J., & Vrijheid, M. (2013). Effects of persistent organic pollutants on the developing respiratory and immune systems: A systematic review. *Environment International*, 52(January), 51–65. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2012.11.005>
- Gascon, M., Sunyer, J., Martínez, D., Guerra, S., Lavi, I., Torrent, M., & Vrijheid, M. (2014).

- Persistent organic pollutants and children's respiratory health: The role of cytokines and inflammatory biomarkers. *Environment International*, 69, 133–140. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.04.021>
- Gasnier C, Dumont C, Benachour N, Clair E, Chagnon MC, & Séralini GE, . (2009). Glyphosate-based-herbicides-are-toxic-and-endocrine-disruptors-in-human-cell-lines_Seralini_Gasnier_Toxicology_2009.pdf. In *Toxicology*2 (Vol. 262, Issue 3, pp. 184–191). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>
- Gasull, M., Bosch de Basea, M., Puigdomènech, E., Pumarega, J., & Porta, M. (2011). Empirical analyses of the influence of diet on human concentrations of persistent organic pollutants: A systematic review of all studies conducted in Spain. *Environment International*, 37(7), 1226–1235. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2011.05.008>
- Gebremichael, S., Birhanu, T., & Tessema, D. A. (2013). Analysis of organochlorine pesticide residues in human and cow's milk in the towns of Asendabo, Serbo and Jimma in South-Western Ethiopia. *Chemosphere*, 90(5), 1652–1657. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.09.008>
- Gerhard, I., Monga, B., Krähe, J., & Runnebaum, B. (1999). Chlorinated hydrocarbons in infertile women. *Environmental Research*, 80(4), 299–310. <https://doi.org/10.1006/enrs.1998.3890>
- Girard, L., Reix, N., & Mathelin, C. (2020). Impact of endocrine disrupting pesticides on breast cancer. In *Gynecologie Obstetrique Fertilité et Senologie* (Vol. 48, Issue 2, pp. 187–195). Elsevier Masson SAS. <https://doi.org/10.1016/j.gofs.2019.10.008>
- Gluszczak, L., dos Santos Miron, D., Crestani, M., Braga da Fonseca, M., Araújo Pedron, F. de, Duarte, M. F., & Vieira, V. L. P. (2006). Effect of glyphosate herbicide on acetylcholinesterase activity and metabolic and hematological parameters in piava (*Leporinus obtusidens*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 65(2), 237–241. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.07.017>
- Gluszczak, L., Miron, D. dos S., Moraes, B. S., Simões, R. R., Schetinger, M. R. C., Morsch, V. M., & Loro, V. L. (2007). Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 146(4), 519–524. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2007.06.004>

- Goel, A., & Aggarwal, P. (2007). Review Article Pesticide poisoning. *THE NATIONAL MEDICAL JOURNAL OF INDIA*, 20(July 2007), 181–191.
- Goldstein, S., Meyerstein, D., & Czapski, G. (1993). The Fenton reagents. *Free Radical Biology and Medicine*, 15(4), 435–445. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(93\)90043-T](https://doi.org/10.1016/0891-5849(93)90043-T)
- Goto, M. (2008). A formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2'-deoxythymidine. *Free Radical Biology and Medicine*, 159(1), 55–87. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.08.003>
- Govarts, E., Iszatt, N., Trnovec, T., de Cock, M., Eggesbø, M., Palkovicova Murinova, L., van de Bor, M., Guxens, M., Chevrier, C., Koppen, G., Lamoree, M., Hertz-Picciotto, I., Lopez-Espinosa, M. J., Lertxundi, A., Grimalt, J. O., Torrent, M., Goñi-Irigoyen, F., Vermeulen, R., Legler, J., & Schoeters, G. (2018). Prenatal exposure to endocrine disrupting chemicals and risk of being born small for gestational age: Pooled analysis of seven European birth cohorts. *Environment International*, 115(November 2017), 267–278. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.03.017>
- Govarts, E., Nieuwenhuijsen, M., Schoeters, G., Ballester, F., Bloemen, K., de Boer, M., Chevrier, C., Eggesbø, M., Guxens, M., Krämer, U., Legler, J., Martínez, D., Palkovicova, L., Patelarou, E., Ranft, U., Rautio, A., Petersen, M. S., Slama, R., Stigum, H., ... Bonde, J. P. (2012). Birth weight and prenatal exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs) and dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE): A meta-analysis within 12 European birth cohorts. *Environmental Health Perspectives*, 120(2), 162–170. <https://doi.org/10.1289/ehp.1103767>
- Graeter, L.J., M. (1996). Kids are different: developmental variability in toxicology. *TOXICOLOGIE*, 111(23), 25–29.
- Grandjean, P., & Landrigan, P. (2006). Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. *Lancet*, 368(9553), 2167–2178. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69665-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69665-7)
- Gunarathna, S., Gunawardana, B., Jayaweera, M., Manatunge, J., & Zoysa, K. (2018). Glyphosate and AMPA of agricultural soil, surface water, groundwater and sediments in areas prevalent with chronic kidney disease of unknown etiology, Sri Lanka. *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 53(11), 729–737. <https://doi.org/10.1080/03601234.2018.1480157>
- Gwendolyn G., & Tye, K. M. (2015). Resolving the neural circuits of anxiety. *Nature*

- Neuroscience*, 18(10), 1394–1404. <https://doi.org/10.1038/nn.4101>
- Habig. (1974). The First. *Journal of Biological Chemistry*, 22, 76–76. <https://doi.org/10.2307/j.ctv18b5cjk.40>
- Halliwell, B. (1989). Current Status Review : Free radicals , reactive oxygen species and human disease : a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br. J. Exp. Path.*, 70, 737–757.
- Halliwell, B. (2006). Oxidative stress and neurodegeneration: Where are we now? *Journal of Neurochemistry*, 97(6), 1634–1658. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.03907.x>
- Hamdaoui, L., Naifar, M., Rahmouni, F., Harrabi, B., Ayadi, F., Sahnoun, Z., & Rebai, T. (2018). Subchronic exposure to kalach 360 SL-induced endocrine disruption and ovary damage in female rats. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 124(1), 27–34. <https://doi.org/10.1080/13813455.2017.1352606>
- HARMAN, D. (1981). the Aging Process. *The Sciences*, 78(8), 10–13. <https://doi.org/10.1002/j.2326-1951.1963.tb00730.x>
- Henkel, R. (2018). Environmental Contamination and Testicular Function. In *Bioenvironmental Issues Affecting Men's Reproductive and Sexual Health* (pp. 191–208). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801299-4.00012-8>
- Heo, H. J., Kim, Y. J., Chung, D., & Kim, D. O. (2007). Antioxidant capacities of individual and combined phenolics in a model system. *Food Chemistry*, 104(1), 87–92. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.11.002>
- Hernández-Plata, I., Giordano, M., Díaz-Muñoz, M., & Rodríguez, V. M. (2015). The herbicide glyphosate causes behavioral changes and alterations in dopaminergic markers in male Sprague-Dawley rat. *NeuroToxicology*, 46, 79–91. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2014.12.001>
- Hietanen, E., Linnainmaa, K., & Vainio, H. (1983). Effects of Phenoxyherbicides and Glyphosate on the Hepatic and Intestinal Biotransformation Activities in the Rat. *Acta Pharmacologica et Toxicologica*, 53(2), 103–112. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0773.1983.tb01876.x>
- Hokanson, R., Fudge, R., Chowdhary, R., & Busbee, D. L. (2007). Alteration of estrogen-regulated gene expression in human cells induced by the agricultural and horticultural

- herbicide glyphosate. *Human and Experimental Toxicology*, 26(9), 747–752. <https://doi.org/10.1177/0960327107083453>
- Hooker, D. (1952). *The Prenatal Origin of Behavior*.
- Horak, I., Horn, S., & Pieters, R. (2021). Agrochemicals in freshwater systems and their potential as endocrine disrupting chemicals: A South African context. In *Environmental Pollution* (Vol. 268, p. 115718). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115718>
- Hossain, M. M., DiCicco-Bloom, E., & Richardson, J. R. (2015). Hippocampal ER stress and learning deficits following repeated pyrethroid exposure. *Toxicological Sciences*, 143(1), 220–228. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfu226>
- Iezhitsa, I. N., Spasov, A. A., & Bugaeva, L. I. (2001). Effects of bromantan on offspring maturation and development of reflexes. *Neurotoxicology and Teratology*, 23(2), 213–222. [https://doi.org/10.1016/S0892-0362\(01\)00119-2](https://doi.org/10.1016/S0892-0362(01)00119-2)
- Jacob, C., Knight, I., & Paul, G. (2006). Aspects of the biological redox chemistry of cysteine : from simple redox responses to sophisticated signalling pathways. *Biol Chem*, 387(November), 1385–1397. <https://doi.org/10.1515/BC.2006.174>
- Jaeschke, H., Gores, G. J., Cederbaum, A. I., Hinson, J. A., Pessayre, D., & Lemasters, J. J. (2002). Mechanisms of hepatotoxicity. *Toxicological Sciences*, 65(2), 166–176. <https://doi.org/10.1093/toxsci/65.2.166>
- Janowska, J. I., Piel, S., Saliba, N., Kim, C. D., Jang, D. H., Karlsson, M., Kilbaugh, T. J., & Ehinger, J. K. (2020). Mitochondrial respiratory chain complex I dysfunction induced by N-methyl carbamate ex vivo can be alleviated with a cell-permeable succinate prodrug. *Toxicology in Vitro*, 65, 104794. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2020.104794>
- Jarrell, Z. R., Ahammad, M. U., & Benson, A. P. (2020). Glyphosate-based herbicide formulations and reproductive toxicity in animals. *Veterinary and Animal Science*, 10(June), 100126. <https://doi.org/10.1016/j.vas.2020.100126>
- Jasper, R., Locatelli, G. O., Pilati, C., & Locatelli, C. (2012). Evaluation of biochemical, hematological and oxidative parameters in mice exposed to the herbicide glyphosate-roundup®. *Interdisciplinary Toxicology*, 5(3), 133–140. <https://doi.org/10.2478/v10102-012-0022-5>

- Jayasumana, C., Paranagama, P., Agampodi, S., Wijewardane, C., Gunatilake, S., & Siribaddana, S. (2015). Drinking well water and occupational exposure to Herbicides is associated with chronic kidney disease, in Padavi-Sripura, Sri Lanka -No section-. *Environmental Health: A Global Access Science Source*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/1476-069X-14-6>
- Jeong, Y., Lee, S., Kim, S., Park, J., Kim, H. J., Choi, G., Choi, S., Kim, S., Kim, S. Y., Kim, S., Choi, K., & Moon, H. B. (2018). Placental transfer of persistent organic pollutants and feasibility using the placenta as a non-invasive biomonitoring matrix. *Science of the Total Environment*, 612, 1498–1505. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.054>
- Jochen Wuerges , Jin-Won Lee, Yang-In Yim, Hyung-Soon Yim, S.-O. K., & Carugo, and K. D. (2004). Nickel superoxide dismutase structure and mechanism: Crystal structure of nickel-containing superoxide dismutase reveals another type of active site. *Chemtracts*, 17(4), 212–217.
- Juricek, L., & Coumoul, X. (2014). Alimentation, pesticides et pathologies neurologiques. *Cahiers de Nutrition et de Dietetique*, 49(2), 74–80. <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2014.02.002>
- Kao, C. C., Que, D. E., Bongo, S. J., Tayo, L. L., Lin, Y. H., Lin, C. W., Lin, S. L., Gou, Y. Y., Hsu, W. L., Shy, C. G., Huang, K. L., Tsai, M. H., & Chao, H. R. (2019). Residue levels of organochlorine pesticides in breast milk and its associations with cord blood thyroid hormones and the offspring's neurodevelopment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(8). <https://doi.org/10.3390/ijerph16081438>
- Karmaus, W., Asakevich, S., Indurkha, A., Witten, J., & Kruse, H. (2002). Childhood growth and exposure to dichlorodiphenyl dichloroethene and polychlorinated biphenyls. *Journal of Pediatrics*, 140(1), 33–39. <https://doi.org/10.1067/mpd.2002.120764>
- Katsikantami, I., Colosio, C., Alegakis, A., Tzatzarakis, M. N., Vakonaki, E., Rizos, A. K., Sarigiannis, D. A., & Tsatsakis, A. M. (2019). Estimation of daily intake and risk assessment of organophosphorus pesticides based on biomonitoring data – The internal exposure approach. *Food and Chemical Toxicology*, 123, 57–71. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.10.047>
- Kazi, A. I., & Oommen, A. (2012). Monocrotophos induced oxidative damage associates with severe acetylcholinesterase inhibition in rat brain. *NeuroToxicology*, 33(2), 156–161.

<https://doi.org/10.1016/j.neuro.2012.01.008>

- Khelifa, N., & F, A. O. A. I. D. (2003). EFFETS DU SULFOSULFURON SUR LA GERMINATION ET LA CROISSANCE DES PLANTULES DE SOJA (Glycine max L). *Annales de l'Institut National Agronomique- El-Harraeh*, 24, 1 et 2.
- Kihara, T., Surjono, T. W., Sakamoto, M., Matsuo, T., Yasuda, Y., & Tanimura, T. (2001). Effects of prenatal rubratoxin-B exposure on behaviors of mouse offspring. *Toxicological Sciences*, 61(2), 368–373. <https://doi.org/10.1093/toxsci/61.2.368>
- Kim, K. H., Kabir, E., & Jahan, S. A. (2017). Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Science of the Total Environment*, 575, 525–535. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.009>
- Kokkinidis, L., Walsh, M. D., Lahue, R., & Anisman, H. (1976). Tolerance to d-amphetamine: Behavioral specificity. *Life Sciences*, 18(9), 913–917. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(76\)90408-2](https://doi.org/10.1016/0024-3205(76)90408-2)
- Kowaltowski, A. J., & Vercesi, A. E. (1999). Mitochondrial damage induced by conditions of oxidative stress. In *Free Radical Biology and Medicine* (Vol. 26, Issues 3–4, pp. 463–471). [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00216-0](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00216-0)
- Krebs, H. A., & Johnson, W. A. (1937). Metabolism of ketonic acids in animal tissues. *Biochemical Journal*, 31(4), 645–660. <https://doi.org/10.1042/bj0310645>
- Kwiatkowska, M., Nowacka-Krukowska, H., & Bukowska, B. (2014). The effect of glyphosate, its metabolites and impurities on erythrocyte acetylcholinesterase activity. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 37(3), 1101–1108. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.04.008>
- Kyriklaki, A., Vafeiadi, M., Kampouri, M., Koutra, K., Roumeliotaki, T., Chalkiadaki, G., Anousaki, D., Rantakokko, P., Kiviranta, H., Fthenou, E., Bitsios, P., Kyrtopoulos, S. A., Kogevinas, M., & Chatzi, L. (2016). Prenatal exposure to persistent organic pollutants in association with offspring neuropsychological development at 4 years of age: The Rhea mother-child cohort, Crete, Greece. *Environment International*, 97, 204–211. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.09.012>
- Lackmann, G. M., Schaller, K. H., & Angerer, J. (2005). Lactational transfer of presumed carcinogenic and teratogenic organochlorine compounds within the first six months of life. *Zeitschrift Fur Geburtshilfe Und Neonatologie*, 209(5), 186–191.

<https://doi.org/10.1055/s-2005-873204>

Ladhar-Chaabouni, R., Gargouri, R., & Chaffai, A. H. (2007). Effect of cadmium on some biomarkers in the clam *Ruditapes decussatus*: Metallothionein quantification using two techniques. *International Journal of Environment and Pollution*, *30*(3–4), 593–605. <https://doi.org/10.1504/IJEP.2007.014831>

Laight, D. W., Carrier, M. J., & Änggård, E. E. (2000). Antioxidants, diabetes and endothelial dysfunction. *Cardiovascular Research*, *47*(3), 457–464. [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(00\)00054-7](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(00)00054-7)

Lajmanovich, R. C., Attademo, A. M., Peltzer, P. M., Junges, C. M., & Cabagna, M. C. (2011). Toxicity of four herbicide formulations with glyphosate on *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) tadpoles: B-esterases and glutathione S-transferase inhibitors. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, *60*(4), 681–689. <https://doi.org/10.1007/s00244-010-9578-2>

Lam, J., Lanphear, B. P., Bellinger, D., Axelrad, D. A., McPartland, J., Sutton, P., Davidson, L., Daniels, N., Sen, S., & Woodruff, T. J. (2017). Developmental pbde exposure and IQ/ADHD in childhood: A systematic review and meta-analysis. *Environmental Health Perspectives*, *125*(8). <https://doi.org/10.1289/EHP1632>

Landrigan, P. J., & Goldman, L. R. (2011). Children's vulnerability to toxic chemicals: A challenge and opportunity to strengthen health and environmental policy. *Health Affairs*, *30*(5), 842–850. <https://doi.org/10.1377/hlthaff.2011.0151>

Landrigan, P. J., Kimmel, C. A., Correa, A., & Eskenazi, B. (2004). Children's health and the environment: Public health issues and challenges for risk assessment. *Environmental Health Perspectives*, *112*(2), 257–265. <https://doi.org/10.1289/ehp.6115>

Landrigan, P. J., Sonawane, B., Mattison, D., McCally, M., & Garg, A. (2002). Chemical contaminants in breast milk and their impacts on children's health: An overview. *Environmental Health Perspectives*, *110*(6), 313–315. <https://doi.org/10.1289/ehp.021100313>

Larsen, K. E., Lifschitz, A. L., Lanusse, C. E., & Virkel, G. L. (2016). The herbicide glyphosate is a weak inhibitor of acetylcholinesterase in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, *45*, 41–44. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2016.05.012>

Larsen, K., Najle, R., Lifschitz, A., & Virkel, G. (2012). Effects of sub-lethal exposure of rats

- to the herbicide glyphosate in drinking water: Glutathione transferase enzyme activities, levels of reduced glutathione and lipid peroxidation in liver, kidneys and small intestine. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 34(3), 811–818. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2012.09.005>
- Laugeray, A., Herzine, A., Perche, O., Hébert, B., Aguillon-Naury, M., Richard, O., Menuet, A., Mazaud-Guittot, S., Lesné, L., Briault, S., Jegou, B., Pichon, J., Montécot-Dubourg, C., & Mortaud, S. (2014). Pre- and postnatal exposure to low dose glufosinate ammonium induces autism-like phenotypes in mice. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8(NOV), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00390>
- Leino, O., Kiviranta, H., Karjalainen, A. K., Kronberg-Kippilä, C., Sinkko, H., Larsen, E. H., Virtanen, S., & Tuomisto, J. T. (2013). Pollutant concentrations in placenta. *Food and Chemical Toxicology*, 54, 59–69. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.10.058>
- Lerro, C. C., Koutros, S., Andreotti, G., Friesen, M. C., Alavanja, M. C., Blair, A., Hoppin, J. A., Sandler, D. P., Lubin, J. H., Ma, X., Zhang, Y., & Freeman, L. E. B. (2015). Organophosphate insecticide use and cancer incidence among spouses of pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Occupational and Environmental Medicine*, 72(10), 736–744. <https://doi.org/10.1136/oemed-2014-102798>
- LEVINE, R. L. (2002). CARBONYL MODIFIED PROTEINS IN CELLULAR REGULATION, AGING, AND DISEASE. *Free Radical Biology & Medicine*, 32(9), 790–796.
- Li, M. H., Ruan, L. Y., Zhou, J. W., Fu, Y. H., Jiang, L., Zhao, H., & Wang, J. S. (2017). Metabolic profiling of goldfish (*Carassius auratus*) after long-term glyphosate-based herbicide exposure. *Aquatic Toxicology*, 188(March), 159–169. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.05.004>
- Li, X., Li, J., Li, P., Jiang, Y., Wu, Y., & Li, B. (2020). Injury to dopaminergic neurons development via the Lmx1a/Wnt1 autoregulatory loop induced by simazine. *Toxicology Letters*, 333, 279–289. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2020.07.026>
- Li, Y., Fang, R., Liu, Z., Jiang, L., Zhang, J., Li, H., Liu, C., & Li, F. (2021). The association between toxic pesticide environmental exposure and Alzheimer’s disease: A scientometric and visualization analysis. In *Chemosphere* (Vol. 263, p. 128238). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128238>

- Lim, D. A., & Alvarez-Buylla, A. (2014). Adult neural stem cells stake their ground. *Trends in Neurosciences*, 37(10), 563–571. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2014.08.006>
- Limon-Miro, A. T., Aldana-Madrid, M. L., Alvarez-Hernandez, G., Antunez-Roman, L. E., Rodriguez-Olibarria, G., & Valencia Juillerat, M. E. (2017). Breast milk intake and mother to infant pesticide transfer measured by deuterium oxide dilution in agricultural and urban areas of Mexico. *Chemosphere*, 181, 682–689. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.04.110>
- Lionetto, M. G., Caricato, R., Calisi, A., Giordano, M. E., & Schettino, T. (2013). Acetylcholinesterase as a biomarker in environmental and occupational medicine: New insights and future perspectives. In *BioMed Research International* (Vol. 2013). <https://doi.org/10.1155/2013/321213>
- Liu, D., Xiao, B., Han, F., Luo, F., Wang, E., & Shi, Y. (2013). Changes in 5-HT1A receptor expression in the oculomotor nucleus in a rat model of post-traumatic stress disorder. *Journal of Molecular Neuroscience*, 49(2), 360–368. <https://doi.org/10.1007/s12031-012-9874-6>
- Liu, Y., Fang, K., Zhang, X., Liu, T., & Wang, X. (2020). Enantioselective toxicity and oxidative stress effects of acetochlor on earthworms (*Eisenia fetida*) by mediating the signaling pathway. *Science of the Total Environment*, 142630. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142630>
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118–126. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>
- Lord, C., Risi, S., & Linda Lambrecht, Edwin H. Cook, Jr., 1 Bennett L. Leventhal, Pamela C. DiLavore, Andrew Pickles, and M. R. (2000). The Autism Diagnostic Observation Schedule–Generic: A Standard Measure of Social and Communication Deficits Associated with the Spectrum of Autism. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 30(3). <https://doi.org/10.1023/A>
- Lotti, M. (1995). Cholinesterase inhibition: Complexities in interpretation. *Clinical Chemistry*, 41(12 SUPPL.), 1814–1818. <https://doi.org/10.1093/clinchem/41.12.1814>
- Lozano, V. L., Defarge, N., Rocque, L. M., Mesnage, R., Hennequin, D., Cassier, R., de Vendômois, J. S., Panoff, J. M., Séralini, G. E., & Amiel, C. (2018). Sex-dependent impact

- of Roundup on the rat gut microbiome. *Toxicology Reports*, 5(December 2017), 96–107. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.12.005>
- Malatesta, M., Perdoni, F., Santin, G., Battistelli, S., & Muller, S. (2008). Cellules de culture tissulaire d'hépatome (HTC) comme modèle pour étudier les effets de faibles concentrations d'herbicide sur la structure et la fonction cellulaire. *Toxicologie in Vitro*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0887233308002270>
- Mamy, L., Gabrielle, B., & Barriuso, E. (2010). Comparative environmental impacts of glyphosate and conventional herbicides when used with glyphosate-tolerant and non-tolerant crops. *Environmental Pollution*, 158(10), 3172–3178. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.06.036>
- Mao, L., Jia, W., Zhang, L., Zhang, Y., Zhu, L., Sial, M. U., & Jiang, H. (2020). Embryonic development and oxidative stress effects in the larvae and adult fish livers of zebrafish (*Danio rerio*) exposed to the strobilurin fungicides, kresoxim-methyl and pyraclostrobin. *Science of the Total Environment*, 729, 139031. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139031>
- Marrs, T. C. (1993). Organophosphate poisoning. *Pharmacology and Therapeutics*, 58(1), 51–66. [https://doi.org/10.1016/0163-7258\(93\)90066-M](https://doi.org/10.1016/0163-7258(93)90066-M)
- Martin, E. I., Ressler, K. J., Binder, E., & Nemeroff, C. B. (2009). The Neurobiology of Anxiety Disorders: Brain Imaging, Genetics, and Psychoneuroendocrinology. *Psychiatric Clinics of North America*, 32(3), 549–575. <https://doi.org/10.1016/j.psc.2009.05.004>
- Martin, J. L., Gruber, C. W., & Craik, D. J. (2006). Protein disulfide isomerase : the structure of oxidative folding. *TRENDS in Biochemical Sciences*, 31(8), 455–464. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2006.06.001>
- Martínez, M. A., Rodríguez, J. L., Lopez-Torres, B., Martínez, M., Martínez-Larrañaga, M. R., Maximiliano, J. E., Anadón, A., & Ares, I. (2020). Use of human neuroblastoma SH-SY5Y cells to evaluate glyphosate-induced effects on oxidative stress, neuronal development and cell death signaling pathways. *Environment International*, 135(September 2019), 105414. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105414>
- Martínez, M., Rodríguez, J., Lopez-torres, B., Martínez, M., Maximiliano, J., Anadón, A., & Ares, I. (2020). Use of human neuroblastoma SH-SY5Y cells to evaluate glyphosate-induced effects on oxidative stress , neuronal development and cell death signaling

- pathways. *Environment International*, 135(December 2019), 105414. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105414>
- Masamichi Iikawa, Hidehiko Okazawa, M. (2021). Molecular imaging for mitochondrial metabolism and oxidative stress in mitochondrial diseases and neurodegenerative disorders. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1865(3). <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2020.129832>
- Matthes, B., Schmalfuss, J., & Boger, P. (1998). Chloroacetamide mode of action, II: Inhibition of very long chain fatty acid synthesis in higher plants. *Zeitschrift Fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 53(11–12), 1004–1011. <https://doi.org/10.1515/znc-1998-11-1211>
- McVey, K. A., Snapp, I. B., Johnson, M. B., Negga, R., Pressley, A. S., & Fitsanakis, V. A. (2016). Exposure of *C. elegans* eggs to a glyphosate-containing herbicide leads to abnormal neuronal morphology. *Neurotoxicology and Teratology*, 55, 23–31. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2016.03.002>
- Mehta, R. V., Sreenivasa, M. A., Mathew, M., Girard, A. W., Taneja, S., Ranjan, S., Ramakrishnan, U., Martorell, R., Ryan, P. B., & Young, M. F. (2020). A mixed-methods study of pesticide exposures in Breastmilk and Community & Lactating Women's perspectives from Haryana, India. *BMC Public Health*, 20(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12889-020-09966-x>
- Mendola, P., Selevan, S. G., Gutter, S., & Rice, D. (2002). Environmental factors associated with a spectrum of neurodevelopmental deficits. *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews*, 8(3), 188–197. <https://doi.org/10.1002/mrdd.10033>
- Menéndez-Helman, R. J., Ferreyroa, G. V., Dos Santos Afonso, M., & Salibián, A. (2012). Glyphosate as an acetylcholinesterase inhibitor in *Cnesterodon decemmaculatus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88(1), 6–9. <https://doi.org/10.1007/s00128-011-0423-8>
- Mesnage and Séralini. (2014). The need for a closer look. *Indian Journal of Aerospace Medicine*, 63, 102–104. https://doi.org/10.25259/ijasm_12_2019
- Mesnage, R., Arno, M., Costanzo, M., Malatesta, M., Séralini, G. E., & Antoniou, M. N. (2015). Transcriptome profile analysis reflects rat liver and kidney damage following chronic ultra-low dose Roundup exposure. *Environmental Health: A Global Access Science*

Source, 14(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12940-015-0056-1>

- Mesnage, R., Renney, G., Séralini, G. E., Ward, M., & Antoniou, M. N. (2017). Multiomics reveal non-alcoholic fatty liver disease in rats following chronic exposure to an ultra-low dose of Roundup herbicide. *Scientific Reports*, 7(July 2016), 1–15. <https://doi.org/10.1038/srep39328>
- Mineur, Y. S., Obayemi, A., Wiggestrand, M. B., Fote, G. M., Calarco, C. A., Li, A. M., & Picciotto, M. R. (2013). Cholinergic signaling in the hippocampus regulates social stress resilience and anxiety- and depression-like behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(9), 3573–3578. <https://doi.org/10.1073/pnas.1219731110>
- Modesto, K. A., & Martinez, C. B. R. (2010). Effects of Roundup Transorb on fish: Hematology, antioxidant defenses and acetylcholinesterase activity. *Chemosphere*, 81(6), 781–787. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.07.005>
- Mose, T., Kjaerstad, M. B., Mathiesen, L., Nielsen, J. B., Edelfors, S., & Knudsen, L. E. (2008). Placental passage of benzoic acid, caffeine, and glyphosate in an ex vivo human perfusion system. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues*, 71(15), 984–991. <https://doi.org/10.1080/01932690801934513>
- Moy, S. S., Nadler, J. J., Perez, A., Barbaro, R. P., Johns, J. M., Magnuson, T. R., Piven, J., & Crawley, J. N. (2004). Sociability and preference for social novelty in five inbred strains: An approach to assess autistic-like behavior in mice. *Genes, Brain and Behavior*, 3(5), 287–302. <https://doi.org/10.1111/j.1601-1848.2004.00076.x>
- Ms, K., & Kakuma, R. (2012). *Optimal duration of exclusive breastfeeding (Review)*. 4. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003517.pub2.www.cochranelibrary.com>
- Müller, M. H. B., Polder, A., Brynildsrud, O. B., Karimi, M., Lie, E., Manyilizu, W. B., Mdegela, R. H., Mokiti, F., Murtadha, M., Nonga, H. E., Skaare, J. U., & Lyche, J. L. (2017). Organochlorine pesticides (OCPs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in human breast milk and associated health risks to nursing infants in Northern Tanzania. *Environmental Research*, 154(September 2016), 425–434. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.01.031>
- Nandula, V. K. (2010). Glyphosate Resistance in Crops and Weeds: History, Development, and Management. In *Glyphosate Resistance in Crops and Weeds: History, Development, and*

Management. <https://doi.org/10.1002/9780470634394>

- Narimani, M., & Da Silva, G. (2020). Thermal decomposition kinetics of glyphosate (GP) and its metabolite aminomethylphosphonic acid (AMPA). *Environmental Science: Processes and Impacts*, 22(1), 152–160. <https://doi.org/10.1039/c9em00422j>
- Negga, R., Stuart, J. A., Machen, M. L., Salva, J., Lizek, A. J., Richardson, S. J., Osborne, A. S., Mirallas, O., McVey, K. A., & Fitsanakis, V. A. (2012). Exposure to glyphosate-and/or Mn/Zn-ethylene-bis-dithiocarbamate-containing pesticides leads to degeneration of c-aminobutyric acid and dopamine neurons in caenorhabditis elegans. *Neurotoxicity Research*, 21(3), 281–290. <https://doi.org/10.1007/s12640-011-9274-7>
- Nishiyori, Y., Nishida, M., Shioda, K., Suda, S., & Kato, S. (2014). Unilateral hippocampal infarction associated with an attempted suicide: A case report. *Journal of Medical Case Reports*, 8(1), 2–5. <https://doi.org/10.1186/1752-1947-8-219>
- Olabisi, L., Folorunsho, A., Adebayo-gege, G., Oyetayo, V., Iyanuoluwa, O., & Tayo, E. (2020). ScienceDirect Epidemiologic evidence linking oxidative stress and pulmonary function in healthy populations. *Chronic Diseases and Translational Medicine*, xxx. <https://doi.org/10.1016/j.cdtm.2020.11.004>
- Olivier, J. D. A., Vinkers, C. H., & Olivier, B. (2013). The role of the serotonergic and GABA system in translational approaches in drug discovery for anxiety disorders. *Frontiers in Pharmacology*, 4 JUN(June), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fphar.2013.00074>
- Olorunsogo, O. O., Bababunmi, E. A., & Bassir, O. (1979). Effect of glyphosate on rat liver mitochondria in vivo. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 22(1), 357–364. <https://doi.org/10.1007/BF02026955>
- Osano, O., Oladimeji, A. A., Kraak, M. H. S., & Admiraal, W. (2002). Teratogenic effects of amitraz, 2,4-dimethylaniline, and paraquat on developing frog (*Xenopus*) embryos. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 43(1), 42–49. <https://doi.org/10.1007/s00244-002-1132-4>
- Ouardi, F. Z., Anarghou, H., Malqui, H., Ouasmi, N., Chigr, M., Najimi, M., & Chigr, F. (2019). Gestational and Lactational Exposure to Malathion Affects Antioxidant Status and Neurobehavior in Mice Pups and Offspring. *Journal of Molecular Neuroscience*, 69(1), 17–27. <https://doi.org/10.1007/s12031-018-1252-6>
- Owagboriaye, F. O., Dedeke, G. A., Ademolu, K. O., Olujimi, O. O., Ashidi, J. S., & Adeyinka,

- A. A. (2017). Reproductive toxicity of Roundup herbicide exposure in male albino rat. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 69(7), 461–468. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2017.04.007>
- Palmer, R. M. J., Rees, D. D., Ashton, D. S., & Moncada, S. (1988). L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 153(3), 1251–1256. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(88\)81362-7](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(88)81362-7)
- Pan, Y. X., Luo, Z., Zhuo, M. Q., Wei, C. C., Chen, G. H., & Song, Y. F. (2018). Oxidative stress and mitochondrial dysfunction mediated Cd-induced hepatic lipid accumulation in zebrafish *Danio rerio*. *Aquatic Toxicology*, 199(February), 12–20. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.03.017>
- Paquet-Walsh, A., Bertolo, A., Landry, C., Deschamps, L., & Boily, M. (2019). Interactive effects of neonicotinoids and natural ultraviolet radiation on yellow perch (*Perca flavescens*) larvae. *Science of the Total Environment*, 685, 690–701. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.113>
- Park, S., Kim, S., Jin, H., Lee, K., & Bae, J. (2014). Impaired development of female mouse offspring maternally exposed to simazine. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 38(3), 845–851. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.10.008>
- Parvez, S., Gerona, R. R., Proctor, C., Friesen, M., Ashby, J. L., Reiter, J. L., Lui, Z., & Winchester, P. D. (2018). Glyphosate exposure in pregnancy and shortened gestational length: A prospective Indiana birth cohort study. *Environmental Health: A Global Access Science Source*, 17(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12940-018-0367-0>
- Pawluski, J. L., & Galea, L. A. M. (2007). Reproductive experience alters hippocampal neurogenesis during the postpartum period in the dam. *Neuroscience*, 149(1), 53–67. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2007.07.031>
- Pawluski, Jodi L, Lambert, K. G., & Kinsley, C. H. (2016). Neuroplasticity in the maternal hippocampus: Relation to cognition and effects of repeated stress. *Hormones and Behavior*, 77, 86–97. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2015.06.004>
- Peixoto, F. (2005). Comparative effects of the Roundup and glyphosate on mitochondrial oxidative phosphorylation. *Elsevier*. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.03.044>
- Pellow, S., Chopin, P., File, S. E., & Briley, M. (1985). Validation of open : closed arm entries

- in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, 14(3), 149–167. [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(85\)90031-7](https://doi.org/10.1016/0165-0270(85)90031-7)
- Pham-Huy. (2008). Stem cell. *International Journal of Biomedical Science REVIEW*, 4(2), 89–96. <https://doi.org/10.17094/ataunivbd.483253>
- Pham, T. H., Derian, L., Kervarrec, C., Kernanec, P. Y., Jegou, B., Smagulova, F., & Gely-Pernot, A. (2019). Perinatal exposure to glyphosate and a glyphosate-based herbicide affect spermatogenesis in mice. *Toxicological Sciences*, 169(1), 260–271. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfz039>
- Picciotto, M. R., Lewis, A. S., Van Schalkwyk, G. I., & Mineur, Y. S. (2015). Mood and anxiety regulation by nicotinic acetylcholine receptors: A potential pathway to modulate aggression and related behavioral states. *Neuropharmacology*, 96(PB), 235–243. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.12.028>
- Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., & Defraigne, J.-O. (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 16(4), 233–239. [https://doi.org/10.1016/s0985-0562\(02\)00166-8](https://doi.org/10.1016/s0985-0562(02)00166-8)
- Poiger, T., Buerge, I. J., Bächli, A., Müller, M. D., & Balmer, M. E. (2017). Occurrence of the herbicide glyphosate and its metabolite AMPA in surface waters in Switzerland determined with on-line solid phase extraction LC-MS/MS. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(2), 1588–1596. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7835-2>
- Powers, S. K., & Jackson, M. J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: Cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological Reviews*, 88(4), 1243–1276. <https://doi.org/10.1152/physrev.00031.2007>
- Powers SK, S. C. (2000). Physiological antioxidants and exercise training. In: Sen CK, Packer L, Hanninen O. (Eds). *Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise*. Elsevier Science: Amsterdam., March, 221–242.
- Primost, J. E., Marino, D. J. G., Aparicio, V. C., Costa, J. L., & Carriquiriborde, P. (2017). Glyphosate and AMPA, “pseudo-persistent” pollutants under real-world agricultural management practices in the Mesopotamic Pampas agroecosystem, Argentina. *Environmental Pollution*, 229, 771–779. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.06.006>
- Priymenko, J. P. N. (2007). *Intérêt des anti-oxydants dans l ’ alimentation des carnivores domestiques*. 180–189.

RAINAUD, P.-L. (2013). *EVALUATION DES RISQUES A LONG TERME DES HERBICIDES A BASE DE GLYPHOSATE SUR LA SANTE HUMAINE*

- Ramirez, D. C., Gomez-Mejiba, S. E., Corbett, J. T., Deterding, L. J., Tomer, K. B., & Mason, R. P. (2009). Cu, Zn-superoxide dismutase-driven free radical modifications: Copper and carbonate radical anion-initiated protein radical chemistry. *Biochemical Journal*, *417*(1), 341–353. <https://doi.org/10.1042/BJ20070722>
- Rani, M., Shanker, U., & Jassal, V. (2017). Recent strategies for removal and degradation of persistent & toxic organochlorine pesticides using nanoparticles: A review. In *Journal of Environmental Management* (Vol. 190, pp. 208–222). <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.12.068>
- Rao, A. V., & Rao, L. G. (2007). Carotenoids and human health. *Pharmacological Research*, *55*(3), 207–216. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2007.01.012>
- Rauh, V. A., Garfinkel, R., Perera, F. P., Andrews, H. F., Hoepner, L., Barr, D. B., Whitehead, R., Tang, D., & Whyatt, R. W. (2006). Impact of prenatal chlorpyrifos exposure on neurodevelopment in the first 3 years of life among inner-city children. *Pediatrics*, *118*(6), 1845–1859. <https://doi.org/10.1542/peds.2006-0338>
- Ribas-Fitó, N., Cardo, E., Sala, M., Eulàlia de Muga, M., Mazón, C., Verdú, A., Kogevinas, M., Grimalt, J. O., & Sunyer, J. (2003). Breastfeeding, exposure to organochlorine compounds, and neurodevelopment in infants. *Pediatrics*, *111*(5 Pt 1). <https://doi.org/10.1542/peds.111.5.e580>
- Rice, D., & Barone, S. (2000). Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: Evidence from humans and animal models. *Environmental Health Perspectives*, *108*(SUPPL. 3), 511–533. <https://doi.org/10.1289/ehp.00108s3511>
- Richard, S., Moslemi, S., Sipahutar, H., Benachour, N., & Seralini, G. (2005). *Differential Effects of Glyphosate and Roundup on Human Placental Cells and Aromatase*. *716*(6), 716–720. <https://doi.org/10.1289/ehp.7728>
- Richardson, J. R., Roy, A., Shalat, S. L., Von Stein, R. T., Hossain, M. M., Buckley, B., Gearing, M., Levey, A. I., & German, D. C. (2014). Elevated serum pesticide levels and risk for Alzheimer disease. *JAMA Neurology*, *71*(3), 284–290.

<https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.6030>

- Rodier, P. M. (1995). Developing brain as a target of toxicity. *Environmental Health Perspectives*, 103(SUPPL. 6), 73–76. <https://doi.org/10.1289/ehp.95103s673>
- Rodier, Patricia M. (2004). Environmental Causes of Central Nervous System Maldevelopment. *Pediatrics*, 113(4 II), 1076–1083.
- Roegge, C. S., Timofeeva, O. A., Seidler, F. J., Slotkin, T. A., & Levin, E. D. (2008). Developmental diazinon neurotoxicity in rats: Later effects on emotional response. *Brain Research Bulletin*, 75(1), 166–172. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2007.08.008>
- Romano, M. A., Wisniewski, P., Viau, P., Romano, R. M., Campos, D. A., Bernardi, M. M., Santos, L. D., De Souza, P. B., Nunes, M. T., & De Oliveira, C. A. (2012). Glyphosate impairs male offspring reproductive development by disrupting gonadotropin expression. *Archives of Toxicology*, 86(4), 663–673. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0788-9>
- Romano, R. M., Romano, M. A., Bernardi, M. M., Furtado, P. V., & Oliveira, C. A. (2010). Prepubertal exposure to commercial formulation of the herbicide glyphosate alters testosterone levels and testicular morphology. *Archives of Toxicology*, 84(4), 309–317. <https://doi.org/10.1007/s00204-009-0494-z>
- Royer, T. A., Giles, K. L., Nyamanzi, T., Hunger, R. M., Krenzer, E. G., Elliott, N. C., Kindler, S. D., & Payton, M. (2005). Economic evaluation of the effects of planting date and application rate of imidacloprid for management of cereal aphids and barley yellow dwarf in winter wheat. *Journal of Economic Entomology*, 98(1), 95–102. <https://doi.org/10.1093/jee/98.1.95>
- Rudzok, S., Schmücking, E., Graebisch, C., Herbarth, O., & Bauer, M. (2009). The inducibility of human cytochrome P450 1A by environmental-relevant xenobiotics in the human hepatoma derived cell line HepG2. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 28(3), 370–378. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2009.06.005>
- Rueda-Ruzafa, L., Cruz, F., Roman, P., & Cardona, D. (2019). Gut microbiota and neurological effects of glyphosate. *NeuroToxicology*, 75, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2019.08.006>
- Saeedi Saravi, S. S., & Dehpour, A. R. (2016). Potential role of organochlorine pesticides in the pathogenesis of neurodevelopmental, neurodegenerative, and neurobehavioral disorders: A review. *Life Sciences*, 145, 255–264.

<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2015.11.006>

- Sagredo, O., Palazuelos, J., Gutierrez-Rodriguez, A., Satta, V., Galve-Roperh, I., & Martínez-Orgado, J. (2018). Cannabinoid signalling in the immature brain: Encephalopathies and neurodevelopmental disorders. *Biochemical Pharmacology*, *157*(August), 85–96. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.08.014>
- Salbego, J., Pretto, A., Gioda, C. R., De Menezes, C. C., Lazzari, R., Radünz Neto, J., Baldisserotto, B., & Loro, V. L. (2010). Herbicide formulation with glyphosate affects growth, acetylcholinesterase activity, and metabolic and hematological parameters in Piava (*Ileporinus obtusidens*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, *58*(3), 740–745. <https://doi.org/10.1007/s00244-009-9464-y>
- Salum, C., Roque-da-Silva, A. C., & Morato, S. (2003). Conflict as a determinant of rat behavior in three types of elevated plus-maze. *Behavioural Processes*, *63*(2), 87–93. [https://doi.org/10.1016/S0376-6357\(03\)00034-2](https://doi.org/10.1016/S0376-6357(03)00034-2)
- Sani, A., & Idris, M. K. (2016). Acute toxicity of herbicide (glyphosate) in *Clarias gariepinus* juveniles. *Toxicology Reports*, *3*, 513–515. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2016.05.004>
- Sayre, L. M., Moreira, P. I., Smith, M. A., & Perry, G. (2005). Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Annali Dell’Istituto Superiore Di Sanita*, *41*(2), 143–164.
- Shieh, P., Jan, C. R., & Liang, W. Z. (2019). The protective effects of the antioxidant N-acetylcysteine (NAC) against oxidative stress-associated apoptosis evoked by the organophosphorus insecticide malathion in normal human astrocytes. *Toxicology*, *417*, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2019.02.004>
- Shin, L. M., & Liberzon, I. (2010). The neurocircuitry of fear, stress, and anxiety disorders. *Neuropsychopharmacology*, *35*(1), 169–191. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.83>
- Shrestha, S., Parks, C. G., Umbach, D. M., Richards-Barber, M., Hofmann, J. N., Chen, H., Blair, A., Beane Freeman, L. E., & Sandler, D. P. (2020). Pesticide use and incident Parkinson’s disease in a cohort of farmers and their spouses. *Environmental Research*, *191*, 110186. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110186>
- Shushkova, T., Ermakova, I., & Leontievsky, A. (2010). Glyphosate bioavailability in soil. *Biodegradation*, *21*(3), 403–410. <https://doi.org/10.1007/s10532-009-9310-y>

- Silverman, J. L., Yang, M., Lord, C., & Crawley, J. N. (2010). Behavioural phenotyping assays for mouse models of autism. *Nature Reviews Neuroscience*, *11*(7), 490–502. <https://doi.org/10.1038/nrn2851>
- Simon, P., Dupuis, R., & Costentin, J. (1994). Thigmotaxis as an index of anxiety in mice. Influence of dopaminergic transmissions. *Behavioural Brain Research*, *61*(1), 59–64. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(94\)90008-6](https://doi.org/10.1016/0166-4328(94)90008-6)
- Simonsen, L., Fomsgaard, I. S., Svensmark, B., & Spliid, N. H. (2008). Fate and availability of glyphosate and AMPA in agricultural soil. *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, *43*(5), 365–375. <https://doi.org/10.1080/03601230802062000>
- Šlamberová, R., Szilágyi, B., & Vathy, I. (2001). Repeated morphine administration during pregnancy attenuates maternal behavior. *Psychoneuroendocrinology*, *26*(6), 565–576. [https://doi.org/10.1016/S0306-4530\(01\)00012-9](https://doi.org/10.1016/S0306-4530(01)00012-9)
- Slikker, W., Acuff, K., Boyes, W. K., Chelonis, J., Crofton, K. M., Dearlove, G. E., Li, A., Moser, V. C., Newland, C., Rossi, J., Schantz, S., Sette, W., Sheets, L., Stanton, M., Tyl, S., & Sobotka, T. J. (2005). Behavioral test methods workshop. *Neurotoxicology and Teratology*, *27*(3), 417–427. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2005.02.003>
- Slotkin, T. A., Bodwell, B. E., Levin, E. D., & Seidler, F. J. (2008). Neonatal exposure to low doses of diazinon: Long-term effects of neural cell development and acetylcholine systems. *Environmental Health Perspectives*, *116*(3), 340–348. <https://doi.org/10.1289/ehp.11005>
- Slotkin, T. A., & Seidler, F. J. (2009). Oxidative and excitatory mechanisms of developmental neurotoxicity: Transcriptional profiles for chlorpyrifos, diazinon, dieldrin, and divalent nickel in PC12 Cells. *Environmental Health Perspectives*, *117*(4), 587–596. <https://doi.org/10.1289/ehp.0800251>
- Sly, P. D., & Flack, F. (2008). Susceptibility of children to environmental pollutants. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1140*, 163–183. <https://doi.org/10.1196/annals.1454.017>
- Sprankle. (1975). *Adsorption, mobilité et dégradation microbienne du glyphosate dans le sol sur JSTOR*. <https://www.jstor.org/stable/4042279?seq=1>
- Squier, T. C. (2001). *Oxidative stress and protein aggregation during biological aging*. 36,

1539–1550.

- Stahl, W., & Sies, H. (2005). Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1740(2), 101–107. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2004.12.006>
- Stevnsner, T., Thorslund, T., De Souza-Pinto, N. C., & Bohr, V. A. (2002). Mitochondrial repair of 8-oxoguanine and changes with aging. *Experimental Gerontology*, 37(10–11), 1189–1196. [https://doi.org/10.1016/S0531-5565\(02\)00142-0](https://doi.org/10.1016/S0531-5565(02)00142-0)
- Struger, J., Thompson, D., Staznik, B., Martin, P., McDaniel, T., & Marvin, C. (2008). Occurrence of glyphosate in surface waters of southern Ontario. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 80(4), 378–384. <https://doi.org/10.1007/s00128-008-9373-1>
- Szepanowski, F., Kleinschnitz, C., & Stettner, M. (2019). Glyphosate-based herbicide: A risk factor for demyelinating conditions of the peripheral nervous system? In *Neural Regeneration Research* (Vol. 14, Issue 12, pp. 2079–2080). Wolters Kluwer Medknow Publications. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.262579>
- Tafari J, R. J. (1987). Organophosphate Poisoning. *Annals of Emergency Medicine*, 16(February), 193–202.
- Tagiyeva, N., Devereux, G., Semple, S., Sherriff, A., Henderson, J., Elias, P., & Ayres, J. G. (2010). Parental occupation is a risk factor for childhood wheeze and asthma. *European Respiratory Journal*, 35(5), 987–993. <https://doi.org/10.1183/09031936.00050009>
- Tamburella, A., Micale, V., Mazzola, C., Salomone, S., & Drago, F. (2012). The selective norepinephrine reuptake inhibitor atomoxetine counteracts behavioral impairments in trimethyltin-intoxicated rats. *European Journal of Pharmacology*, 683(1–3), 148–154. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2012.02.045>
- Tang-Péronard, J. L., Heitmann, B. L., Jensen, T. K., Vinggaard, A. M., Madsbad, S., Steuerwald, U., Grandjean, P., Weihe, P., Nielsen, F., & Andersen, H. R. (2015). Prenatal exposure to persistent organochlorine pollutants is associated with high insulin levels in 5-year-old girls. *Environmental Research*, 142, 407–413. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.07.009>
- Tang, J., Hu, P., Li, Y., Win-Shwe, T. T., & Li, C. (2017). Ion imbalance is involved in the mechanisms of liver oxidative damage in rats exposed to glyphosate. *Frontiers in*

- Physiology*, 8(DEC), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.01083>
- Tang, Q., Tang, J., Ren, X., & Li, C. (2020). Glyphosate exposure induces inflammatory responses in the small intestine and alters gut microbial composition in rats. *Environmental Pollution*, 261, 114129. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114129>
- Tau, G. Z., & Peterson, B. S. (2010). Normal development of brain circuits. *Neuropsychopharmacology*, 35(1), 147–168. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.115>
- Thabet, H., Brahmi, N., Kouraïchi, N., Elghord, H., & Amamou, M. (2009). *Intoxications par les pesticides organophosphorés : nouveaux concepts Organophosphorus poisoning: New concepts*. 18, 633–639. <https://doi.org/10.1016/j.reaurg.2009.05.006>
- Thongprakaisang, S., Thiantanawat, A., Rangkadilok, N., Suriyo, T., & Satayavivad, J. (2013). Glyphosate induces human breast cancer cells growth via estrogen receptors. *Food and Chemical Toxicology*, 59, 129–136. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.05.057>
- Tilson, H. A. (1998). Developmental neurotoxicology of endocrine disruptors and pesticides: Identification of information gaps and research needs. *Environmental Health Perspectives*, 106(SUPPL. 3), 807–811. <https://doi.org/10.1289/ehp.98106807>
- Timothy P Cash, BA, Yi Pan, PhD, and M. C. S. (2007). Reactive Oxygen Species and Cellular Oxygen Sensing Timothy. *NIH Public*, 72(2), 1219–1225. <https://doi.org/10.1016/j.freeradiomed.2007.07.001> Reactive
- Trasande, L., Aldana, S. I., Trachtman, H., Kannan, K., Morrison, D., Christakis, D. A., Whitlock, K., Messito, M. J., Gross, R. S., Karthikraj, R., & Sathyanarayana, S. (2020). Glyphosate exposures and kidney injury biomarkers in infants and young children. *Environmental Pollution*, 256, 113334. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113334>
- Trigueiro, N. S. de S., Gonçalves, B. B., Dias, F. C., de Oliveira Lima, E. C., Rocha, T. L., & Sabóia-Morais, S. M. T. (2021). Co-exposure of iron oxide nanoparticles and glyphosate-based herbicide induces DNA damage and mutagenic effects in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 81, 103521. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103521>
- Ugarte, R. (2014). Interaction between glyphosate and mitochondrial succinate dehydrogenase. *Computational and Theoretical Chemistry*, 1043, 54–63. <https://doi.org/10.1016/j.comptc.2014.05.018>

- Ursini, F., & Maiorino, M. (2020). Lipid peroxidation and ferroptosis: The role of GSH and GPx4. *Free Radical Biology and Medicine*, *152*(December 2019), 175–185. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.02.027>
- US-EPA. (2011). Edition of the Drinking Water Standards and Health Advisories. Office of Water US Environmental Protection Agency. *Washington*, 1–18.
- Vafeiadi, M., Georgiou, V., Chalkiadaki, G., Rantakokko, P., Kiviranta, H., Karachaliou, M., Fthenou, E., Venihaki, M., Sarri, K., Vassilaki, M., Kyrtopoulos, S. A., Oken, E., Kogevinas, M., & Chatzi, L. (2015). Association of prenatal exposure to persistent organic pollutants with obesity and cardiometabolic traits in early childhood: The rhea mother–child cohort (Crete, Greece). *Environmental Health Perspectives*, *123*(10), 1015–1021. <https://doi.org/10.1289/ehp.1409062>
- Valiente Moro, C., Bricheux, G., Portelli, C., & Bohatier, J. (2012). Comparative effects of the herbicides chlortoluron and mesotrione on freshwater microalgae. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *31*(4), 778–786. <https://doi.org/10.1002/etc.1749>
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, *39*(1), 44–84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
- Van Bruggen, A. H. C., He, M. M., Shin, K., Mai, V., Jeong, K. C., Finckh, M. R., & Morris, J. G. (2018). Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. In *Science of the Total Environment* (Vols. 616–617, pp. 255–268). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.309>
- Vertuani, S., Angusti, A., & Manfredini, S. (2005). The Antioxidants and Pro-Antioxidants Network: An Overview. *Current Pharmaceutical Design*, *10*(14), 1677–1694. <https://doi.org/10.2174/1381612043384655>
- Villarreal, R., Lozano, L. A., Polich, N. G., Salazar, M. P., Bellora, G. L., Turinetto, M. J., & Soracco, C. G. (2020). Influence of soil water holding and transport capacity on glyphosate dynamics in two agricultural soils from Pampas Region. *Geoderma*, *376*, 114566. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114566>
- Vizcaino, E., Grimalt, J. O., Fernández-Somoano, A., & Tardon, A. (2014). Transport of persistent organic pollutants across the human placenta. *Environment International*, *65*,

107–115. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.01.004>

- Vizcaino, E., Grimalt, J. O., Lopez-Espinosa, M. J., Llop, S., Rebagliato, M., & Ballester, F. (2011). Polybromodiphenyl ethers in mothers and their newborns from a non-occupationally exposed population (Valencia, Spain). *Environment International*, *37*(1), 152–157. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2010.08.011>
- VoPham, T., Bertrand, K. A., Hart, J. E., Laden, F., Brooks, M. M., Yuan, J. M., Talbott, E. O., Ruddell, D., Chang, C. C. H., & Weissfeld, J. L. (2017). Pesticide exposure and liver cancer: a review. In *Cancer Causes and Control* (Vol. 28, Issue 3, pp. 177–190). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/s10552-017-0854-6>
- Waliszewski, S. M., Sanchez, K., Caba, M., Saldariaga-Noreña, H., Meza, E., Zepeda, R., Valencia Quintana, R., & Infanzon, R. (2012). Organochlorine pesticide levels in female adipose tissue from Puebla, Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *88*(2), 296–301. <https://doi.org/10.1007/s00128-011-0438-1>
- Walker, B. (2005). Pediatric environmental health. *Journal of the National Medical Association*, *97*(2), 262–269. [https://doi.org/10.1016/s1538-5442\(03\)90017-4](https://doi.org/10.1016/s1538-5442(03)90017-4)
- Walsh, L. P., McCormick, C., Martin, C., & Stocco, D. M. (2000). Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression. *Environmental Health Perspectives*, *108*(8), 769–776. <https://doi.org/10.1289/ehp.00108769>
- Wang, G., Fan, X. N., Tan, Y. Y., Cheng, Q., & Chen, S. Di. (2011). Parkinsonism after chronic occupational exposure to glyphosate. *Parkinsonism and Related Disorders*, *17*(6), 486–487. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2011.02.003>
- Wang, L., Ohishi, T., Akane, H., Shiraki, A., Itahashi, M., Mitsumori, K., & Shibutani, M. (2013). Reversible effect of developmental exposure to chlorpyrifos on late-stage neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus in mouse offspring. *Reproductive Toxicology*, *38*, 25–36. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2013.02.004>
- Wang, X. F., Li, S., Chou, A. P., & Bronstein, J. M. (2006). Inhibitory effects of pesticides on proteasome activity: Implication in Parkinson's disease. *Neurobiology of Disease*, *23*(1), 198–205. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2006.02.012>
- Waring, W. S., Convery, A., Mishra, V., Shenkin, A., Webb, D. J., & Maxwell, S. R. J. (2003). Uric acid reduces exercise-induced oxidative stress in healthy adults. *Clinical Science*,

105(4), 425–430. <https://doi.org/10.1042/CS20030149>

- Wasiu, A. O., & Abdulfatai, A. (2019). TOXIC EFFECTS OF PARAQUAT DICHLORIDE LEACHATE ON TESTES AND SPERM PARAMETERS OF MALE WISTAR RATS. *International Journal of Anatomy and Research*, 7(1.3), 6274–6279. <https://doi.org/10.16965/ijar.2018.457>
- Weight, B., Exposure, P., Pcb, B., Govarts, E., Nieuwenhuijsen, M., Schoeters, G., Ballester, F., & Bloemen, K. (2012). Review and Dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE): A Meta-analysis within 12 European Birth Cohorts. *Environmental Health Perspectives*, 162(2), 162–170.
- Weiss, B. (2000). Vulnerability of children and the developing brain to neurotoxic hazards. *Environmental Health Perspectives*, 108(SUPPL. 3), 375–381. <https://doi.org/10.2307/3454523>
- Whyatt, R. M., Garfinkel, R., Hoepner, L. A., Andrews, H., Holmes, D., Williams, M. K., Reyes, A., Diaz, D., Perera, F. P., Camann, D. E., & Barr, D. B. (2009). A biomarker validation study of prenatal chlorpyrifos exposure within an inner-city cohort during pregnancy. *Environmental Health Perspectives*, 117(4), 559–567. <https://doi.org/10.1289/ehp.0800041>
- Wiberg, K., Letcher, R. J., Sandau, C. D., Norstrom, R. J., Tysklind, M., & Bidleman, T. F. (2000). The enantioselective bioaccumulation of chiral chlordane and α -HCh contaminants in the polar bear food chain. *Environmental Science and Technology*, 34(13), 2668–2674. <https://doi.org/10.1021/es990740b>
- Wieland Schrod, M. K. (2013). Field Investigations of Glyphosate in Urine of Danish Dairy Cows. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*, 03(05). <https://doi.org/10.4172/2161-0525.1000186>
- Williams, G. M., Kroes, R., & Munro, I. C. (2000). Safety Evaluation and Risk Assessment of the Herbicide Roundup and Its Active Ingredient, Glyphosate, for Humans. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 31(2), 117–165. <https://doi.org/10.1006/rtp.1999.1371>
- Windle, W. F., & Fish, M. W. (1932). The development of the vestibular righting reflex in the cat. *Journal of Comparative Neurology*, 54(1), 85–96. <https://doi.org/10.1002/cne.900540107>
- Wolin, M. S. (1996). Reactive Oxygen Species and Vascular Signal Transduction Mechanisms.

MICROCIRCULATION, 3(1), 1–17.

- Xiaoyuan Wang, & Peter J. Quinn. (1999). Vitamin E and its functions in biological membranes. *Progress in Lipid Research*, 38, 309–336.
- Xu, X., Nembhard, W. N., Kan, H., Becker, A., & Talbott, E. O. (2012). Residential Pesticide Use Is Associated With Children's Respiratory Symptoms. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 54(10), 1281–1287. <https://doi.org/10.1097/JOM.0b013e31825cb6ae>
- Xue, N., Xu, X., & Jin, Z. (2005). Screening 31 endocrine-disrupting pesticides in water and surface sediment samples from Beijing Guanting reservoir. *Chemosphere*, 61(11), 1594–1606. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.04.091>
- Yélamos, F., Díez, F., Martín, C., Blanco, J. L., García, M. J., Lardelli, A., & Peña, J. F. (1992). Acute organophosphate insecticide poisonings in the province of Almería. A study of 187 cases. *Medicina Clínica*, 98(18), 681–684. <https://europepmc.org/article/med/1602878>
- Zhang, J., Guo, J., Wu, C., Qi, X., Jiang, S., Zhou, T., Xiao, H., Li, W., Lu, D., Feng, C., Liang, W., Chang, X., Zhang, Y., Cao, Y., Wang, G., & Zhou, Z. (2020). Early-life carbamate exposure and intelligence quotient of seven-year-old children. *Environmental International*, 145. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106105>
- Zhang, Z., Cao, Y., Tao, Y., E, M., Tang, J., Liu, Y., & Li, F. (2020). Sulfonylurea and fracture risk in patients with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis. In *Diabetes Research and Clinical Practice* (Vol. 159, p. 107990). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2019.107990>
- Zhao, C., Deng, W., & Gage, F. H. (2008). Mechanisms and Functional Implications of Adult Neurogenesis. *Cell*, 132(4), 645–660. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.01.033>
- Zhu, R., Wang, Y., Zhang, L., & Guo, Q. (2012). Oxidative stress and liver disease. *Hepatology Research*, 42(8), 741–749. <https://doi.org/10.1111/j.1872-034X.2012.00996.x>
- Zocchi, M., & Sommaruga, R. (2019). Microplastics modify the toxicity of glyphosate on *Daphnia magna*. *Science of the Total Environment*, 697, 134194. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134194>
- Zorrilla, L. M., Gibson, E. K., & Stoker, T. E. (2010). The effects of simazine, a chlorotriazine herbicide, on pubertal development in the female Wistar rat. *Reproductive Toxicology*,

29(4), 393–400. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2010.03.010>

