



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Dr. Moulay Taher -Saida-

Faculté des Sciences

Département de Biologie

Laboratoire de Biotoxicologie, Pharmacognosie et Valorisation biologique des Plantes

MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER II EN

BIOLOGIE

Option : Biochimie

Présenté par :

M^{elle}. REGGAD Nawel

M^{elle}. SAFIR Khadidja

Thème:

Evaluation de l'effet neurotoxique de l'acrylamide durant la période de développement chez des souris *Mus musculus* : Etude neurocomportementale, biochimique et histopathologique.

Soutenue publiquement devant le jury :

Président : Pr. SLIMANI Miloud (Université de Saida).

Examineur : Dr. ZIANI Kaddour (Maitre de conférences A) (Université de Saida).

Encadreur : Pr. Kahloula Khaled (Université de Saida).

Année Universitaire : 2018-2019

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions **Allah** Tout Puissant, notre créateur de nous avoir guidé dans le bon chemin et donné la volonté, le courage et la patience nécessaire pour traverser tous les moments difficiles et résoudre tous les problèmes qu'on a eu afin de mener ce projet à terme, Nous vous devons ce que nous sommes devenues, Louanges et remerciements pour votre clémence et miséricorde.

Ce modeste travail est l'aboutissement d'un long cheminement au cours duquel nous avons bénéficié de l'encadrement, des conseils et du soutien de plusieurs personnes, à qui nous tenons à dire profondément et sincèrement merci.

Nos sentiments de reconnaissance vont en premier lieu à l'endroit de notre cher encadreur **Pr. KAHLOULA Khaled** qui a accepté la charge d'être le rapporteur de notre mémoire et qui nous a dirigé et suivi dans ce travail, nous vous remercions pour l'aide précieuse, la disponibilité, les conseils pertinentes et le temps consacré pour la correction de ce manuscrit ainsi que toutes qualités scientifiques et humaines.

Notre plus profonde gratitude s'adresse à **Pr. SLIMANI Miloud** qui avez fait l'honneur d'accepter la présidence du jury, nous vous remercions pour l'intérêt porté au sujet.

En acceptant d'être membres du jury, c'est avec un très grand plaisir que nous remercions infiniment **Dr. ZIANI Kaddour** d'avoir bien voulu d'examiner et de juger notre travail, qu'il trouve ici le témoignage de notre plus profond respect et de notre plus vive reconnaissance.

Nous profitons également de ces remerciements pour exprimer toutes nos gratitudes à **Dr. KAID** et **Dr. AMMAM** et à tous les enseignants de la faculté de Biologie pour nous avoir transmis leurs connaissances et assurer notre formation.

Nous tenons aussi à exprimer un grand merci à tous les membres de l'équipe du service d'anatomopathologie du CHU. HASSANI Abdelkader à Sidi Bel Abbès ; nous remercions profondément :

Pr.TOU Abdenacer, pour son accueil qui nous a réservé et pour son aide, ses conseils et son orientation durant notre stage, Veuillez trouver ici l'expression de nos plus profonds respects.

Dr ARGOUB Hayat, pour sa gentillesse, son soutien, son expérience et sa meilleure collaboration qui nous a fourni tout au long de la période de notre stage, une partie de notre mémoire repose sur les connaissances que vous nous avez transmises ; Veuillez trouver ici les expressions de nos sincères gratitude.

Samia et son équipe : **Nouria, Rachida, Kawthar, Nouria, Sarah** et **Feriel** qui nous ont grandement aidé dans la réalisation des coupes histologiques, nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à vous.

Nous remercions vivement **M^{elle}. ARABI Wafaa, M^{elle}. TAIBI Narimen** et **Mr. FIDAH Hadj** pour les conseils, l'aide et l'amitié qu'ils nous ont témoignés tout au long de notre travail, sans oublier **Mr. HAMMAN Ahmed** et **Mr. DAIF Ben Ahmed** nous les remercions infiniment pour leurs aides.

À tous ceux qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire,

À toute personne nous ayant consacré un moment pour nous aider, nous encourager, ou simplement nous sourire,

Un éternel merci à vous...

Dédicaces

*Avec l'aide d'Allah Tout Puissant, j'ai pu réaliser ce modeste travail
que je dédie :*

À ma chère mère

*Pour tous ses sacrifices, son amour inestimable, son encouragement, son
soutien et ses prières tout au long de mes études, rien au monde ne vaut
l'effort qu'elle m'a fournis.*

À mon cher père

Pour sa patience, son amour et ses prières.

À la mémoire de mon grand père

Que Dieu, le Tout Puissant lui accorde sa miséricorde.

À mon Frère Abdenour et mes adorables sœurs Fatima, Jihanne

A qui je souhaite un avenir radieux plein de réussite

À ma chère binôme Nawal et sa famille

*Pour tous ces bons moments passés ensemble. Je te souhaite de belles années à
venir*

À mes amis : Hanaa, Fatima, Hakima et Nouha

À tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

Khadija

Dédicaces

*Avec l'aide d'Allah Tout Puissant, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je
dédie :*

*À mes parents, vous êtes les plus chers à mon cœur, tous les mots ne
sauraient exprimer ma reconnaissance, ma gratitude, mon amour et mon respect
pour tous vos sacrifices, vos aides et vos encouragements, j'espère être toujours à
la hauteur de vos espérances, vous méritez tout ce qu'il y a de mieux en ce
monde ! Puisse Allah vous protège et vous accorde santé, bonheur et longue vie.*

*À mes chères sœurs **Karima** et **Asmaa**, un éternel merci à vous pour vos
encouragements, vos aides, vos conseils et surtout vos présences auprès de moi.*

*À mon frère **Mohamed Abd El Samed** qui n'a jamais été absent, merci pour
ton apport inestimable.*

*À mon cher neveu **Iyad Radjeh**, j'inspire l'espoir de ta sourire, Que dieu te
garde mon ange !*

À mes tantes, merci pour vos prières.

À toute ma famille.

*À ma chère binôme **Khadidja**, Puisse Allah t'éclaire ta route et t'aide à réaliser
tes vœux les plus chers.*

*À mes adorables copines : **Hanaa**, **Hakima** et **Fatima El Zohra**, merci pour
tous les bons moments qu'on a vécus ensemble.*

*À tous ceux qui ne sont pas là aujourd'hui pour partager ce moment avec
moi, mes pensées vont souvent vers vous !*

Nawel

Liste des tableaux :

Tableau 1: L'identité de la substance : Acrylamide.	6
Tableau 2: Propriétés principales de l'acrylamide.....	8
Tableau 3: Résumé des concentrations d'Acry relevées dans les aliments (FAO/OMS, 2006).	35
Tableau 4: Le mode opératoire effectué pour le dosage des triglycérides.....	70
Tableau 5: Le mode opératoire effectué pour le dosage du cholestérol total.	72
Tableau 6: Le mode opératoire effectué pour le dosage de la créatinine.....	74
Tableau 7: Le processus effectué par l'automate de l'imprégnation.	76
Tableau 8: le processus effectué par l'automate de coloration.....	80

Liste des figures :

Figure 1: Formules chimiques de l'Acrylamide en 2D et 3D (Belhadj, 2018).	6
Figure 2: La réactivité chimique de l'Acry (Kelein, 2007).....	12
Figure 3: L'alkylation des protéines par l'Acry et formation des adduits (Klein, 2007)	14
Figure 4: Le processus de la production d'Acry par l'hydratation catalytique (Ohara et al., 2012).	15
Figure 5: Rhodococcus rhodochrous sous le microscope électronique (Wang, 2013).	16
Figure 6: Polymérisation d'Acry (Klein, 2007).....	16
Figure 7: Schéma générale de la réaction de Maillard (Cladière et Camel, 2017).	20
Figure 8: La condensation de Maillard (Klein, 2007)	21
Figure 9: Les produits du réarrangement d'Amadori et de Hyens (Klein, 2007).	21
Figure 10: La déshydratation forte (CHERIOT, 2008).....	22
Figure 11: La déshydratation modérée (Perrotin, 2004).	23
Figure 12: La dégradation de Strecker (Machiel et Istasse, 2002).	24
Figure 13: La structure de mélanoïdine : produit final de la RM (Kelein, 2007).	24
Figure 14 : Mécanisme proposé de la formation d'Acry par la RM (Mustafa, 2008).	25
Figure 15: Mécanisme alternatif de la formation d'Acry (Gökmen, 2016).....	26
Figure 16: Schéma récapitulatif des voies secondaires de la formation d'Acry (Erikson, 2005).	28
Figure 17 : La structure du dérivé 2,3-di-bromo-propionamide (Pub Chem, 2005).	30
Figure 18 : La représentation schématique de l'Analyse d'Acry par la technique colorimétrie couplée à l'analyse informatique (Hu et al., 2015).....	32

Figure 19: La représentation schématique de l'analyse d'Acry par la technique ELISA (Compétitive indirect) (Hu et al., 2015).....	32
Figure 20: Réactions électrochimiques impliquées dans le fonctionnement des biocapteurs à base d'hémoglobine (Pundir et al., 2019).....	33
Figure 21: Le protocole et les techniques du dosage d'Acry (schéma récapitulatif) (Qinqin Hu et al., 2015).....	33
Figure 22: Schéma simplifier de la toxicocinétique de l'Acry (Gökmen, 2016).....	38
Figure 23 : Principales voies métaboliques de l'Acry (Gökmen, 2016).	44
Figure 24: Les cages d'hébergement des souris.	58
Figure 25 : Le protocole expérimentale effectué.	60
Figure 26: Le dispositif de l'Open Field.....	62
Figure 27: Le test Dark and Light (les souris à tester).....	63
Figure 28: Le dispositif du test la nage forcée.....	64
Figure 29: Gait score.....	65
Figure 30: Le probe test de la poutre d'équilibre (24mm).	66
Figure 31: Le labyrinthe de Barnes.....	68
Figure 32: Le test de la mémoire spatiale : Barnes Maze.....	68
Figure 33: Les prélèvement des cerveaux.....	69
Figure 34 : Les étapes effectuées dans la salle de la macroscopie.	75
Figure 35 : L'automate d'imprégnation.	77
Figure 36 : Les différentes étapes d'enrobage.....	78
Figure 37: La station d'enrobage utilisée.	78
Figure 38 : La réalisation des coupes par le microtome.	79
Figure 39 : L'automate de coloration utilisé.	81
Figure 40 : Le montage des lames.	82
Figure 41: Les lames préparées pour l'analyse microscopique.....	82
Figure 42: L'examen microscopique des sections histologiques.	82
Figure 43: Photographie représentant l'atteinte des pattes postérieurs (Évasement du panard) chez les femelles Acry (Acry a et Acry b).	85
Figure 44 : Photographie représentant une réduction de redressement chez les femelles Acry comparativement aux femelles contrôles.....	86
Figure 45 : Photographie démontrant une réduction de l'effectif de la taille des progénitures chez les femelles Acry a par rapport aux femelles C.....	86

Figure 46: Photographie démontrant un retard de développement et une mortalité de la progéniture issus des femelles Acry b comparativement aux celle des femelles C.....	86
Figure 47 : L'évolution pondérale des souriceaux durant la période d'intoxication l'évolution. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (*P \leq 0.05, **P \leq 0.01, ***P \leq 0.001).	87
Figure 48: Comparaison entre les poids des cerveaux des deux lots (C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (*P \leq 0.05).	87
Figure 49: Comparaison de l'activité locomotrice, la réactivité émotionnelles et exploratoire entre les deux lots par le test de l'Open Field. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (*P \leq 0.05).	89
Figure 50: L'évaluation de l'état d'anxiété entre les deux lots (C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (*P \leq 0.05).	89
Figure 51: L'évaluation de l'état de dépression entre les deux lots (C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (*P \leq 0.05).	90
Figure 52 : Comparaison entre les scores d'ambulation des souriceaux (C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (***P \leq 0.001).	90
Figure 53: L'évaluation de la coordination motrice des lots (C et Acry) par le test de la poutre d'équilibre (A : 6mm, B : 12mm, C : 24mm). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (**P \leq 0.01, ***P \leq 0.001).	92
Figure 54: L'évaluation des capacités d'apprentissages par le test de Barnes (le temps de latence deux lots : C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (**P \leq 0.01).	93
Figure 55: L'évaluation des capacités d'apprentissages par le test de Barnes (Le nombre des erreurs des deux lots : C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (*P \leq 0.05).	93
Figure 56: L'évaluation des capacités de rétention par le test de mémoire (la latence et le temps passé dans chaque quadrant pour les deux lots : C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (*P \leq 0.05).....	94
Figure 57: L'évaluation des capacités de rétention par le test de mémoire à long terme (la latence et le temps passé dans chaque quadrant pour les deux lots : C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (*P \leq 0.05).	95
Figure 58: Les effets d'Acry sur la glycémie (comparaison des deux lots : (C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (*P \leq 0.05).	95
Figure 59: Les effets de l'Acry sur les paramètres lipidiques : le dosage du cholestérol total (comparaison des deux lots : (C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (***P \leq 0.001).	96

Figure 60: Les effets de l'Acry sur les paramètres lipidiques : le dosage des triglycéride (comparaison des deux lots : (C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (*P \leq 0.05).	96
Figure 61: Les effets de l'Acry sur les paramètres rénaux : le dosage de la créatinine : le dosage de la créatinine (comparaison des deux lots : (C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (*P \leq 0.05, ***P \leq 0.001).	97
Figure 62: Les effets d'Acry sur les paramètres rénaux : le dosage de l'urée (comparaison des deux lots : (C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (*P \leq 0.05).	97
Figure 63: Une microphotographie (Gr \times 40) démontrant l'aspect cellulaire du parenchyme cérébral chez les deux sections histologiques (C et Acry).....	98
Figure 64: Une microphotographie (Gr \times 40) démontrant des spongioles des cellules pyramidales chez les sections histologiques Acry.	99
Figure 65: Une microphotographie (Gr \times 40) démontrant une vacuolisation des cellules pyramidales chez les sections histologiques Acry.	99
Figure 66: Une microphotographie (Gr \times 40) démontrant des nécroses des cellules pyramidales chez les sections histologiques Acry.	100
Figure 67: Une microphotographie (Gr \times 40) démontrant des nécroses des cellules granuleuses chez les sections histologiques Acry.....	101
Figure 68: Une microphotographie (Gr \times 40) démontrant l'aspect cellulaire des congestions des capillaires sanguine chez les sections histologiques Acry.....	102
Figure 69: Une microphotographie (Gr \times 40) démontrant l'aspect cellulaire du parenchyme cérébelleux des deux sections histologiques (C et Acry).....	103
Figure 70: Une microphotographie (Gr \times 40) démontrant une réduction de cellules de Purkinje chez les sections histologiques Acry comparées aux C.....	104
Figure 71: Une microphotographie (Gr \times 10) démontrant une congestion médullaire des sections histologiques Acry comparées aux C.....	104

Liste des abréviations :

AAMA : N-acétyl-S-(2-carbamoyléthyl) cystéine.

AAMA-Sul : Sulfoxyde.

AChE : Acétylcholine Estérase.

Acry : Acrylamide.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ALAT : Alanine Amino Transférase.

ALP : Phosphates Alcalins.

ANOVA : Analysis of variance.

ASAT : Aspartate Amino Transférase.

ARN : Acide ribonucléique.

ATP : Adénosine triphosphate.

BDNF : Facteur neurotrophiques dérivé du cerveau.

Ca²⁺ : Calcium.

CL : Chromatographie en phase liquide à haute performance.

CYP450 2E1 : Monooxygénases cytochrome P450 dépendantes.

GABA : Acide –Gamma- Amino- Butyrique.

GAD65 : Glutamate décarboxylase.

GAMA : N-acétyl-S-(2-carbamoyl-2-hydroxyéthyl) cystéine.

GC : Cellules des Grains.

GC-MS : Chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse.

Glyc : Glycidamide.

GSH : Glutathion.

GST : Glutathion-S-transférase.

gC: Couche granuleuse.

HDL : Lipoprotéine de haute densité.

Iso-GAMA : N-acétyl-S-(1-carbamoyl-2 hydroxyéthyl) cystéine.

K_{co} : Coefficient de partage carbone organique-eau.

K_{oe} : Coefficient de partage octanol-eau.

LDL : Lipoprotéine de basse densité.

LIS : Liste intérieure des substances.

M : Partie médullaire du cervelet

MC : Couche Moléculaire.

MTs : Microtubules.

N° CAS : Numéro de registre du Chemical Abstracts Service.

NCI : National Chemical Inventories.

NO : Oxyde Nitrique.

PC : Cellules Pyramidales.

PJ C : Couche intermédiaire des Cellules de Purkinje.

pk : Constante de dissociation.

RM : Réaction de Maillard.

ROS : Espèces Réactives d'Oxygène.

SNC : Système Nerveux Central.

SNP : Système Nerveux Périphérique.

SPE : Extraction en Phase Solide.

Table des matières :

<i>Remerciements</i>	
<i>Dédicaces</i>	
<i>Liste des tableaux</i>	
<i>Liste des figures</i>	
<i>Liste des abréviations</i>	
Introduction générale	1
Introduction :	2
Acrylamide : synthèse bibliographique	5
1. Description générale :	6
2. Propriétés physico-chimiques :	7
2.1 Propriétés physiques :	7
2.2 Propriétés chimiques :	11
3. D'autres caractéristiques (polymérisation/dépolymérisation) et conditions de stockage :	12
.4 La réactivité chimique d'Acry :	13
5. La production et l'utilisation :	14
5.1 Sa production :	14
5.2 Son usage :	16
6. La formation de l'Acry dans les aliments :	18
6.1 Sa découverte au sein des aliments :	18
6.2 Sa formation au sein des aliments :	19
7. Le dosage des aliments :	28
7.1 Les étapes du dosage :	28
7.2 Les méthodes analytiques standards :	29
7.3 Des méthodes analytiques rapides :	31
8. Taux d'Acry dans les aliments :	34

9. Les sources d'expositions à l'acrylamide :	35
9.1 L'exposition professionnelle :	35
9.2 L'exposition par les aliments :	36
9.3 L'exposition par le tabagisme :	36
9.4 Les autres sources d'exposition :	37
10. La toxicocinétique :	38
10.1 L'absorption :	38
10.2 Distribution :	40
10.3 Métabolisme :	41
10.4 Elimination :	44
11. La biosurveillance d'acrylamide :	45
12. Toxicité de l'Acry :	45
12.1 Toxicité aiguë :	45
12.2 Toxicité sub-chronique et chronique :	46
<i>Matériel et méthodes</i>	57
L'objectif :	58
1. Matériel biologique :	58
2. Le protocole expérimental :	60
.3 L'évolution pondérales :	61
4. L'étude neurocomportementale :	61
4.1 Open Field Test :	61
4.2 Dark and Light :	63
4.3 Forced Swimming Test:	63
4.4 Gait score :	64
4.5 Beam Balance Test:	65
4.6 Barnes Maze :	66
5. Le sacrifice et le prélèvement des organes :	68
6. Les analyses biologiques :	69
6.1 Dosage du glucose :	69
6.2 Dosage des lipides :	70

6.3	L'évaluation de la fonction rénale :	72
7.	L'étude histologique :	74
7.1	La fixation :	74
7.2	L'observation macroscopique des organes fixés :	75
7.3	La réalisation des blocs de paraffine :	75
7.4	La microtomie et confection des coupes :	78
7.5	La coloration des coupes :	79
7.6	Le montage des lames :	81
7.7	L'observation microscopique :	82
8.	L'étude statistique :	83
	<i>Résultats et interprétations</i> :	84
1.	Les observations macroscopiques :	85
2.	Les effets d'Acry sur l'évolution pondérale et le poids des cerveaux :	86
3.	Les effets d'Acry à l'échelle neurocomportementale :	88
3.1	L'évaluation de l'activité locomotrice et exploratoire (Open Field) :	88
3.2	L'évaluation de l'état d'anxiété (Dark and Light) :	89
3.3	L'évaluation de l'état de dépression (Forced Swimming test) :	89
3.4	L'évaluation du paralysie des membres postérieurs (Gait Score) :	90
3.5	L'évaluation de la coordination motrice (Beam Balance test) :	91
3.6	L'évaluation des capacités d'apprentissage et de la mémorisation (Barnes Maze):	92
4.	Les effets d'Acry sur les paramètres biochimiques :	95
5.	Les effets d'Acry à l'échelle microscopique :	97
	□ Au niveau cérébral :	97
	□ Au niveau cérébelleux :	102
	<i>Discussion</i> :	105
	□ L'Acry est un agent tératogène et affecte la période de gestation et lactation:....	106
	□ L'Acry perturbe l'évolution pondérale :	108
	□ L'Acry engendre des troubles neurocomportementaux :	109
	□ Les effets de l'Acry sur l'activité locomotrice :	109

□ L'effet de l'Acry sur les niveaux d'anxiété, la dépression et l'exploration :.....	112
□ Les effets de l'Acry sur la mémoire et l'apprentissage :.....	113
□ L'Acry génère des lésions élémentaires au niveau neuronal (aspect microscopique):.....	114
□ L'Acry et les modifications les paramètres biochimiques :	117
<i>Conclusion générale</i>	119
Conclusion :.....	120
<i>Références bibliographiques</i>	122
Résumé :	

Introduction
générale

Introduction :

Depuis les années 1950 du vingtième siècle l'acrylamide a pris mondialement l'importance par sa production et son usage en divers domaines, ce composé chimique est synthétisé comme un monomère par l'hydratation de l'acrylonitrile en présence des catalyseurs inorganiques ou de biocatalyseur (**Kelein, 2007**).

Sa polymérisation en polyacrylamide lui renferme la majorité de son application industrielle comme un agent floculant dans le traitement et la clarification des eaux usées , dans la fabrication des textiles , du papier et en laboratoire pour la production de gels d'électrophorèse et aussi au sein des industries pétrolières et cosmétiques comme un expient, en outre son maniement dans la construction des emballages alimentaires en plastiques ainsi que d'autres secteurs différents...il est biodégradable si il est relâché dans l'environnement occasionnellement (**INSPQ, 2013 ; Al-Gholam et al., 2016; Dortaj et al., 2017 ; Erdemli et al., 2018**).

L'acrylamide ne se trouve pas naturellement dans les aliments, mais il peut se former en abondance pendant les processus domestiques de cuisson: friture et routissage ou une transformation industrielle à des températures qui dépassent les 120 °C (selon la découverte suédoise en 2002) cette formation n'était possible que par le biais de la réaction de Maillard qui s'effectue généralement entre les sucres réducteurs comme glucose, fructose... et les acides aminés tel que l'asparagine consécutives des denrées alimentaires (**Kelein, 2007 ; Al-Gholam et al., 2016; Gökmen , 2016 ; Erdemli et al., 2016**).

Son caractère toxique a été décelé auparavant à travers des multiples études qui ont été menées sur des animaux par des différentes doses et des voies d'exposition variables : orale, intrapéritonéale, inhalation... ainsi des études épidémiologiques réalisées en milieu professionnel chez les êtres humaines y compris son effet: immunotoxique, hépatotoxique, neurotoxique, génotoxique, carcinogène, tératogène et comme un perturbateur endocrinien et un agent qui induit le stress oxydatif au niveau tissulaire... (**Al-Gholam et al., 2016 ; Belhadj , 2018**).

À cet égard, plusieurs recherches in vivo et in vitro prêtent l'attention afin de démontrer son pouvoir nocif à plusieurs échelles : clinique, biochimique, moléculaire et aussi anatomo-pathologique et même pour moderniser des méthodes analytiques

permettant sa détection et sa réduction dans les denrées alimentaires (**Biedermann et al., 2002 ; Al-Gholam et al., 2016 ; Belhadj, 2018**).

D'autres recherches démontrent que le système nerveux représente la cible privilégiée à ce composé vinylique qui se traduit par des manifestations de neurotoxicité comme : l'ataxie, la neuropathie périphérique et centrale, la faiblesse musculaire... (**Krishna et al., 2015**).

La période de développement : prénatale, néonatale et postnatale est très sensible qui pourrait être facilement affectée par les xénobiotiques y compris l'acrylamide et aussi par d'autres facteurs endogènes (**Gökmen, 2016 ; Dortaj et al., 2017**), de même les nourrissons, les enfants et les adolescents sont la population vulnérable par cette toxicité due à leurs croissances, leurs faibles poids corporels ainsi que leurs tailles réduites et pareillement leurs consommations des comestibles riches en acrylamide selon des habitudes et des préférences alimentaires tel que les croustilles de pommes de terre, les frites, les chips, les biscuits et les popcorns... (il était estimé que leur apport en acrylamide est de 2 à 3 fois plus élevé que celui des adultes) (**Krishna et al., 2015 ; Al-Gholam et al., 2016**).

L'hydrophilicité d'acrylamide, lui renferme sa toxicité où il pourrait être facilement transféré du placenta, à travers le cordon ombilical et par le lait maternel pendant la grossesse ou l'allaitement si les mères ont été exposées à cet agent et il entraîne par la suite des dommages irréversibles chez les fœtus et les nourrissons (**Edwards, 1976, JIFSAN/NCFST, 2002**).

A la lumière de ces données, notre étude consiste à évaluer le pouvoir neurotoxique de l'acrylamide suite à une intoxication sub- aigue (à raison de 400ppm) chez des souris albinos durant leurs phase de développement, en insistant préalablement sur l'identification, la formation et la toxicité de ce xénobiotique dans un contexte bibliographique, ensuite on cerne par notre travail les approches suivantes :

- ✚ Le plan physiologique : portant par l'évaluation de la croissance de la progéniture en mesurant les taux de natalité et de mortalité ainsi que l'évolution pondérale.
- ✚ Le plan neurocomportemental : en tenant compte l'activité locomotrice, la coordination motrice, l'anxiété, la dépression en outre l'apprentissage et la mémorisation...

- ✚ Le plan biochimique : par le dosage des biomarqueurs rénale, lipidique et la glycémie....
- ✚ Le plan histopatologique : à travers la détection et l'identification des lésions tissulaires au niveau cérébrale et cérébelleux...

Acrylamide :
synthèse
bibliographique

1. Description générale :

Parmi la multitude de produits toxiques connus à ce jour, on retrouve l'acrylamide (Acry) (**Brisson-Gauthier,2012**) ce composé organique est également appelé 2-propénamide, amide acrylique ou éthylène carboxamide (**Carrara, 2018**), il est identifié et caractérisé par les formules chimiques (brute, semi-développée) qui figurent ci-dessous (**figure1 et tableau 1**)

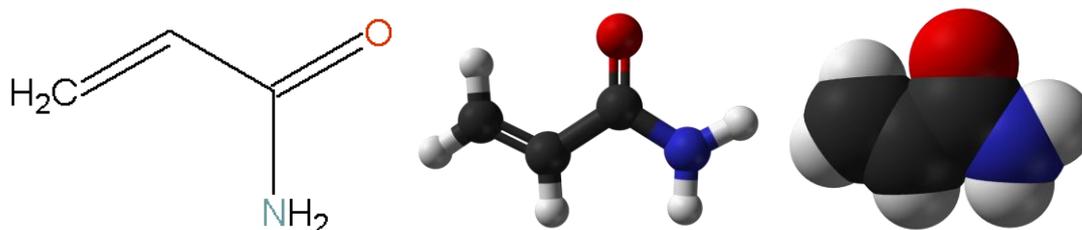
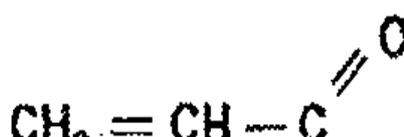
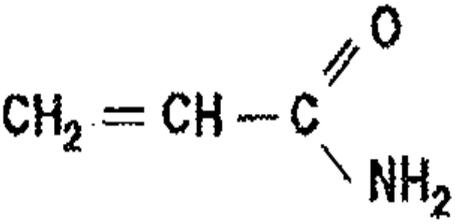


Figure 1: Formules chimiques de l'Acrylamide en 2D et 3D (**Belhadj, 2018**).

Tableau 1: L'identité de la substance : Acrylamide.

N° CAS	79-06-1	ATC,2002 INRS,2007 INRS,2010 ATSDR,2012 INERIS,2019
Nom dans la LIS	2-propénamide	NCI,2008
Noms dans les NCI	Acrylamid (allemand) (EINECS, SWISS) Acrilamida (espagnol) (EINECS) Acrylamide (anglais, français) (LIS, EINECS, ENCS, ECL, PICCS) 2-propénamide (AICS, ASIA-PAC, DSL, ECL, NZIoC, PICCS, SWISS, TSCA)	NCI,2008 INRS,2007 INRS,2010
Autres noms	Acrylamide monomère ; Acide/ Amide Acrylique; Bio-Acrylamide 50; Ethylène carboxamide; Propenamidine; 2-Propene amide; Amide vinylique	NCI,2008 INRS,2007 INRS,2010
Groupe /Sous-groupe chimiques	Produits chimiques organiques /Acrylamide et méthacrylamides, Amide insaturé	INRS,2007 INRS,2010 NCI,2008
Formule chimique brute	C_3H_5ON	INRS, 2007 INRS, 2010 INERIS, 2019



Formule chimique semi développée :		INRS, 2007
Danger et identification du risque :	<div style="text-align: center;">  </div> <p>H301 - Toxique en cas d'ingestion</p> <p>H312 - Nocif par contact cutané</p> <p>H315 - Provoque une irritation cutanée</p> <p>H317 - Peut provoquer une allergie cutanée</p> <p>H319 - Provoque une sévère irritation des yeux</p> <p>H332 - Nocif par inhalation</p> <p>H340 - Peut induire des anomalies génétiques</p> <p>H350 - Peut provoquer le cancer</p> <p>H361f - Susceptible de nuire à la fertilité</p> <p>H372 - Risque avéré d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée</p>	<p>INRS, 2007</p> <p>INRS, 2019</p>

2. Propriétés physico-chimiques :

2.1 Propriétés physiques :

L'Acry se présente sous la forme d'une poudre solide cristalline inodore dont la couleur peut varier (incolore ou blanchâtre à blanche), il est hydrosoluble et même sa solubilité dans divers solvants organiques est dite favorable tel que : l'éthanol, le méthanol ou l'acétone... Il est considéré comme un produit combustible, peu inflammable, il se sublime lentement à des températures ambiantes et il ne réagit pas en fluorescence, cet agent est un chromophore faible pour la détection en UV (Ultra-Violet) due à sa conjugaison limitée des électrons π (Eriksson, 2005 ; Klein, 2007 ; Fiche demeter, 2010 ; Mnif, 2015 ; Carrara, 2018), les propriétés d'Acry sont présentées dans le (tableau 2).

Acrylamide : synthèse bibliographique

Tableau 2: Propriétés principales de l'acrylamide

Propriété	Type/Remarque	Valeur/Description	Température (°C) /pH	Référence
État physique		Cristaux en paillettes (solide), blancs, inodores 		IPCS,1985 ATC,2002 INRS,2007 Zitouni,2010 Carrara,2018
		71.08		Habermann,1991 ATC,2002 Klein,2007 Zitouni,2010
Masse moléculaire		71.09		INRS,2007 EURARA,2002 INERIS,2019
Masse volumique (kg/m³)	Expérimental	1 122 (1,122 g/ml)	30°C	Kirk-Othmer, 2001 Klein,2007
Densité (g/ml)		1,122		ATC,2002 Zitouni,2010
		1,125	30°C	INRS,2007 Carrara,2018
		1,13		EURARA,2002 INERIS,2019
Point de fusion (°C)	Expérimental	84 à 85		Verschueren, 2001
	Expérimental	84,25		EURARA,2002 INERIS,2019
	Expérimental	84,5		Howard,1989 Habermann,1991 Vershueren,2001 ATC,2002 KLEIN,2007 Zitouni,2010 INRS,2007 Carrara,2018

Acrylamide : synthèse bibliographique

Point de fusion (°C)	Expérimental	84 à 85		Verschueren, 2001
	Expérimental	84,25		EURARA,2002 INERIS,2019
	Expérimental	84,5		Howard,1989 Habermann,1991 Vershueren,2001 ATC,2002 KLEIN,2007 Zitouni,2010 INRS,2007 Carrara,2018
Point d'ébullition (°C)	Expérimental	87 (à 2 mm Hg ou 0,27 kPa)		Howard, 1989 Kirk-Othmer,2001
		103 (à 0,67 kPa) 116,5 (à 1,4 kPa)		Kirk-Othmer,2001
		125 (à 25 mm Hg ou 3,33 kPa)		ATC,2002 INRS,2007 Klein,2007 Zitouni,2010
		136 (à 3,3 kPa)		Habermann,1991 Kirk-Othmer,2001
		192,6		Verschueren,2001
Point d'auto-inflammation		424° C		ATC,2002
Constante de la loi de Henry (Pa·m³/mol)	Calculé	$3,2 \times 10^{-5}$ ($3,2 \times 10^{-10}$ atm·m ³ /mol)		Howard,1989
	Calculé	2.97e-05	25°C	EURARA, 2002 INERIS, 2019
	Modélisé	$5,98 \times 10^{-4}$		Henrywin, 2000

Acrylamide : synthèse bibliographique

Log K_{oc}	Expérimental	-0,67			Howard, 1989 Hansch et al. 1995 ATC,2002 INRS,2007 EPA,2011 INERIS,2019
	Modélisé	-0,81			Kowwin, 2000
		-1			EURARA,2002 INERIS,2019
Log K_{co}	Modélisé	1,02			Pckocwin, 2000
	Estimé à partir de K _{oc}	Log 0,2			EURARA,2002 INERIS,2019
pK_a / pK_b	Modélisé (acide)	15,4			ACDDB,2005
	Modélisé (base)	-0,83			
Solubilité dans l'eau (g/L)	Expérimental (Très soluble)	2 050			Verschueren,2001
		2 151		30 °C	Howard, 1989
		2155		30 °C	American Cyanamid,1969 Budavari et al.,1989 Habermann,1991 Verschueren,2001 EURAR,2002 INERIS,2019
				30 °C pH= 5,0-6,5	ATC, 2002
		2 155			Kirk-Othmer,2001
Solubilité dans divers solvants (g/L)	Très peu soluble / Légèrement soluble / Soluble	n-heptane	0,068	30 °C	Habermann,1991 Lide,2000 Budavari,2001 ATC,2002
		Benzène	3,46		
		Chloroforme	26,6~27		
		Acétate d'éthyle	126		
		Acétone	631		
		Ethanol	862		
		Méthanol	1550		

Acrylamide : synthèse bibliographique

Volatilité : Pression/Tension de vapeur (Pa)	Expérimental (Assez volatil)	0,93 (7×10^{-3} mm Hg)	25 °C	Howard,1989 Habermann,1991 ATC,2002
		0,9	25 °C	Carpenter et Davis,1957 Kirk- Othmer,2001 INRS,2007 EURARA,2002 INERIS,2019
		4,4	40 °C	Carpenter et Davis,1957 Kirk- Othmer,2001 INRS,2007
		9,3	50 °C	Carpenter et Davis,1957 Kirk- Othmer,2001
		270	87 °C	ATC,2002 INRS,2007
Biodégradabilité	Biodégradable			INERIS,2019

2.2 Propriétés chimiques :

L'Acry est une molécule polaire où il présente des propriétés d'un acide ainsi qu'une base faibles, chimiquement, il possède deux groupements réactifs : l'insaturation $\alpha\beta$ (la double liaison vinylique carbone-carbone) et le groupement amide (figure 2) ; ce dernier est impliqué dans divers réactions comme l'alcoolyse, la déshydratation, l'hydrolyse, l'esterification et la condensation avec les aldéhydes ainsi que sa double liaison insaturée est impliquée dans d'autres réactions d'addition, de polymérisation et de copolymérisation ... et elle lui confère la majeure partie de sa réactivité chimique à cause de son caractère électrophile vis-à-vis les composés nucléophiles; ces réactions sont généralement réversibles et elles sont responsables de sa toxicité (sa réactivité vers les macromolécules: protéines /l'ADN par des réactions d'addition...etc ; ceci sera démontré ultérieurement), il peut également réagir fortement avec les agents oxydants ou des réducteurs ainsi que les bases fortes, sa décomposition thermique donne lieu à un dégagement de fumées d'acides ainsi que d'oxyde d'azote (Eriksson, 2005; Klein,2007; INRS,2007; Zioutini,2010; Mnif,2015).

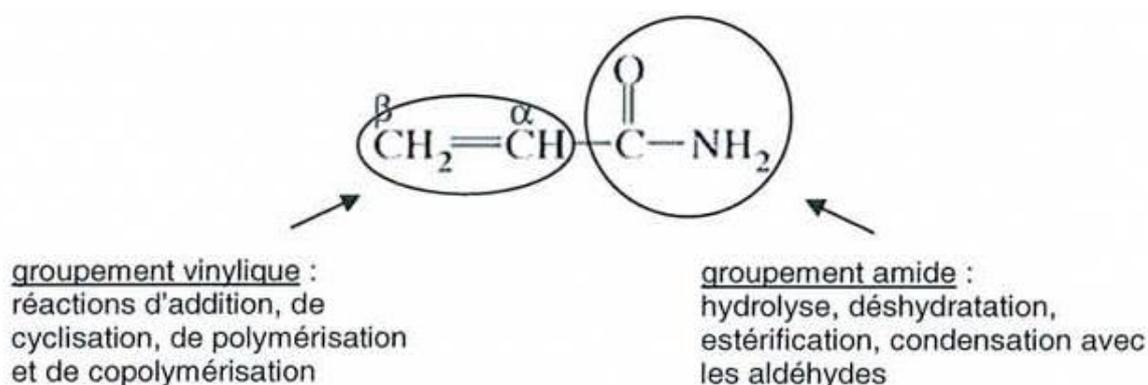


Figure 2: La réactivité chimique de l'Acry (Kelein, 2007)

3. D'autres caractéristiques (polymérisation/dépolymérisation) et conditions de stockage :

L'Acry peut se polymériser en polyacrylamide suite à une polymérisation adiabatique en fonction de certains paramètres tel que l'humidité, les températures supérieures à 80 °C, l'exposition à la lumière ou les radiations UV et les ultrasons... et aussi sous l'action des initiateurs oxydants: peroxydes, persulfates, ions ferriques, les acides forts (H_2SO_4) même en traces (réaction exothermique dangereuse)... donc, pour éviter cette polymérisation les solutions commerciales doivent contenir le cuivre (100 ppm) ou d'autres antioxydants comme: l'hydroquinone, tert-butyl-pyrocatechol et l'oxygène afin d'assurer leurs stabilisations, en outre que l'Acry est conservé surtout à l'abri de l'humidité dans un endroit sec à des températures ambiantes recommandées de 20 à 30 °C et dans des locaux frais et bien ventilés à l'abri des rayonnements solaires et de toute source de chaleur ou d'ignition (flammes, étincelles...) et à l'écart des produits incompatibles (oxydants forts, bases fortes), en outre qu'un contrôle de la concentration d'inhibiteur de polymérisation doit être fait régulièrement, les contenants utilisés généralement pour leur stockage pur doivent être en plastique ou en verre, étiquetés avec le symbole «Toxique» et par l'énumération des risques particuliers ainsi les conseils de prudence doit être prise en considération, de plus sa durée de stockage est environ six mois au maximum, cependant le polyacrylamide peut aussi se dépolymériser en Acry sous l'effet de la température et de la lumière mais l'effet du pH serait nul (ATC,2002; INRS,2007; Klein, 2007; IRIS,2009; fiche demeter, 2010; Zitouni,2010; Carrara,2018).

4. La réactivité chimique d'Acry :

L'insaturation vinylique et le caractère électrophile d'Acry confirme sa réactivité ; ceci était prouvé dès les années 1953 vis-à-vis des biomolécules surtout de nature nucléophiles (comme les protéines: créatine kinase, aldolase, α -lactoglobuline, sérum albumine bovine, cytochrome c, fucosidase des petits poids, glyceraldehyde-3-phosphate déshydrogénase, caséine... etc) par le biais des réactions d'addition de Mickael, d'alkylation ...etc (**Friedman, 2003 ; Klein, 2007**) , ces combinaisons qui résultent entre ces deux entités moléculaires distinctes (Acry et les macromolécules) génèrent des adduits réactifs (figure 3) pouvant former d'autres types d'adduits ou régénérant l'Acry (**Zamora et al., 2010**), ils sont soit le résultat des interactions entre le carbone β d'Acry et des groupements réactifs des acides aminés, comme: les groupements SH de la cystéine, de l'homocystéine et de glutathione, le groupement α NH₂ des acides aminés libres des protéines (exemple le résidu valine d'hémoglobine, la glycine) ou le groupement ϵ NH₂ de la lysine ainsi que les résidus N-terminaux des protéines , les groupements Imidazole de l'histidine et le groupement phényle de la tyrosine...etc, ou soit entre des bases consécutives d'ADN et son métabolite époxydé générant par la suite d'autres adduits (**Klein, 2007; ISAAC et al., 2009; An Adams et al., 2010**) , en outre que sa fonction amide peut également interagir par la formation des liaisons hydrogènes (**Friedman, 2003**).

L'Acry est aussi impliqué dans nombreux réactions non covalentes avec le fluorophore en fluorescence où il peut réduire son rendement quantique par un procédé d'extinction (**Friedman, 2003**) ainsi que sa polyvalence lui permettra d'agir comme un ligand, un agent chélateur des métaux de transition comme : Cu²⁺, Fe²⁺... par le biais des réactions de coordination au sein des systèmes biologiques jouant un rôle crucial dans leurs activations, désactivations ... etc (**Girma et al., 2005**).

Ces réactions sont généralement sous l'influence du milieu réactionnel, le pH, le temps, les groupements réactifs et même la teneur en Acry ; cela était démontré expérimentalement et même cinétiquement (**Bordini et al., 2000 ; Adams et al., 2010**).

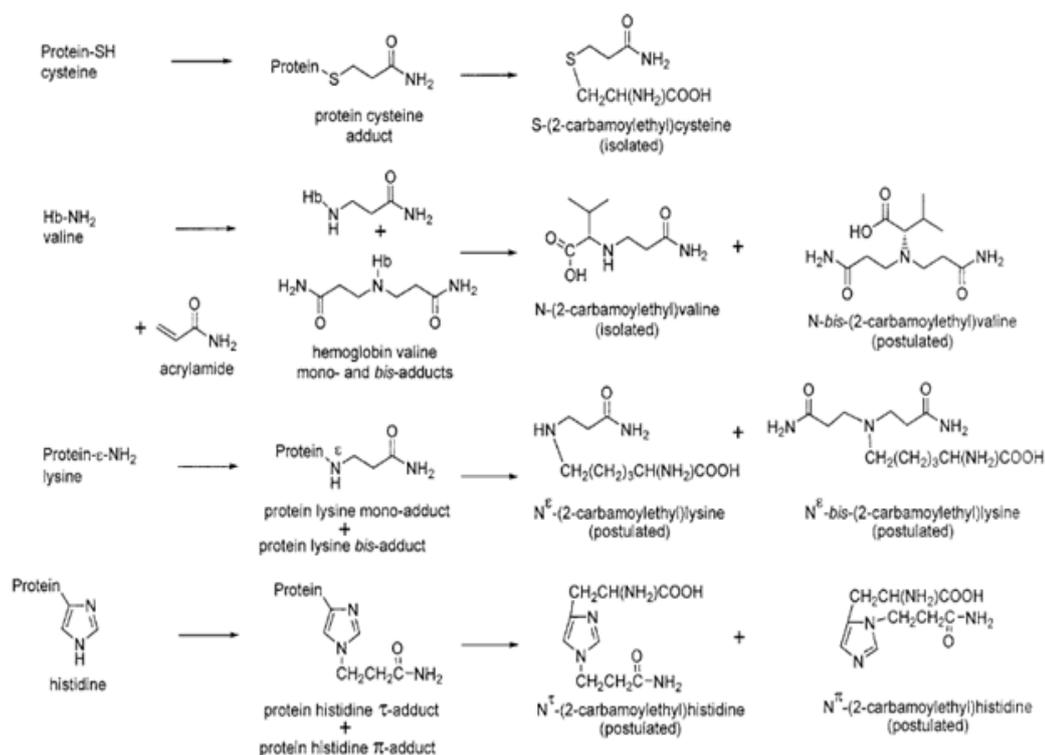


Figure 3: L'alkylation des protéines par l'Acry et formation des adduits (Klein, 2007)

5. La production et l'utilisation :

5.1 Sa production :

L'Acry n'existe pas naturellement, il s'agit d'un produit qui était synthétisé chimiquement pour la première fois en 1949 (IRIS, 2010), sa production sous forme de monomère débuta aux Etats-Unis dès les années 1955 ainsi comme polymère commença en 1960 (Klein, 2007; Sabine, 2008 ; Kamble et al., 2013 ; Carrara, 2018), il fut généralement synthétiser à base d'acrylonitrile par un processus d'hydratation homogène ou bien catalytique hétérogène en présence de catalyseurs métalliques, inorganiques comme le cuivre, manganèse, rhodium, cobalt...etc , le procédé homogène s'effectue entre la solution d'acrylonitrile en présence de l'acide sulfurique, ce mélange doit être chauffé lentement (60 – 80°C) puis refroidi, la neutralisation de cet mélange par l'ammonium permet la précipitation de la sulfate d'ammonium et l'obtention de l'Acry sous sa forme cristalline, mais le processus d'hydratation hétérogène (figure 4) nécessite une hydratation de la solution d'acrylonitrile dans un réacteur et un chauffage entre 100 - 150 °C en présence de catalyseurs, leur refroidissement permet l'obtention d'une solution aqueuse 30 - 50 %

d'Acry (après la séparation et le recyclage des catalyseurs), en générant une pollution importante comme un inconvénient (Klein, 2007; Ohara et al., 2012 ; Mnif, 2015; Carrara, 2018).

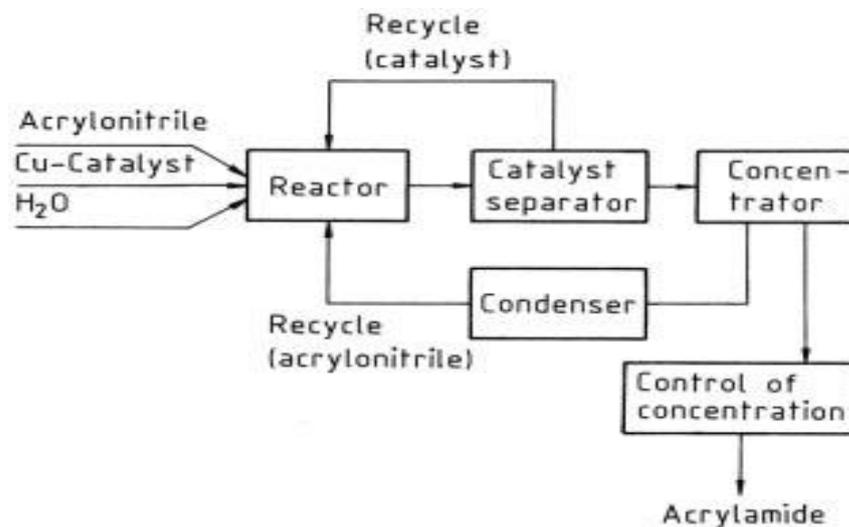


Figure 4: Le processus de la production d'Acry par l'hydratation catalytique (Ohara et al., 2012).

Depuis 1980, les industriels de la société Nitto des produits chimiques au Japon découvrirent la nitrile hydratase ; une enzyme capable de transformer l'acrylonitrile en Acry et en remplaçant aussitôt la technique précédente, en s'appuyant sur des techniques de génie génétique et du clonage moléculaire cela permet d'améliorer les rendements de cette production ainsi que la réduction d'énergie consommée à 80% par rapport à la technique initiale (Klein, 2007)

En 1990, l'utilisation d'un micro-organisme, *Rhodococcus rhodochrous* (figure5), dans la production d'Acry a été mise en place ; cette souche assure la biotransformation d'acrylonitrile en Acry grâce à une production du nitrile hydratase intrinsèque (Tatyana et al., 2000; Raj jog, 2006; Klein ,2007; Carrara, 2018) , et grâce à cette technique, il a été produit à grande échelle (50 000 à 75 000 tonnes par an au Japon, aux Etats-Unis et en Europe (Klein, 2007).

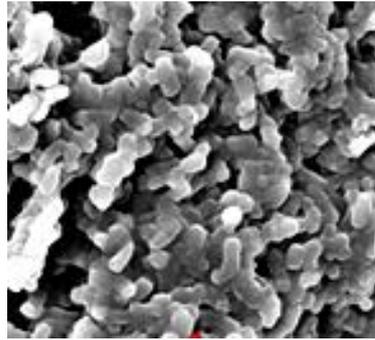


Figure 5: *Rhodococcus rhodochrous* sous le microscope électronique (Wang, 2013).

5.2 Son usage :

L'Acry est très utilisé en industrie et fut disponible commercialement dès les années 1955, plus de 99,9 % de sa forme monomère fut utilisé dans la fabrication de polymère de haut poids moléculaire: le polyacrylamide (non ionique: inerte chimiquement) sous forme d'un réseau tridimensionnel par un processus de polymérisation radicalaire (figure 6); qui s'effectue entre l'Acry et le bis-acrylamide (N,N'méthylène-bis-acrylamide), ce dernier agit comme agent pontant et sa quantité détermine le taux de réticulation et de porosité de cet polymère en présence des radicaux libres générés par des initiateurs réactifs utilisés en solution aqueuse (Friedman et Mottram, 2007; Klein,2007; Zitouni,2010 ; Carrara,2018).

Il existe d'autres types de polymérisation tel que la polymérisation anionique et la copolymérisation d'Acry avec le diméthylaminoéthyl acrylates ou l'acide acrylique en générant de polymères dits chargés cationique ou anionique respectivement pour assurer quelques utilisations industriels (Bouras, 2013 ; Mnif, 2015).

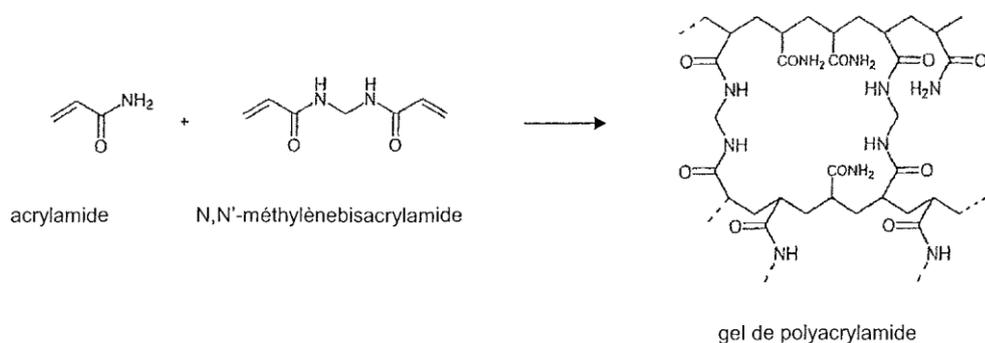


Figure 6: Polymérisation d'Acry (Klein, 2007)

Ce monomère vinylique ainsi que son polymère possèdent plusieurs applications industrielles en divers domaines, tel que :

- Dans l'industrie minière et le traitement des eaux : les polymères hydrosolubles et les copolymères sont utilisés comme flocculants des eaux usées ainsi que dans la clarification d'eau potable (car ils se lient aux particules à éliminer et forment des agrégats à sédimenter) (**Friedman, 2003 ; Klein, 2007 ; Santé Canada, 2008 ; Zitouni, 2010**).
- Dans l'industrie pétrolière : comme un modificateur de viscosité (**Klein, 2007 ; Zitouni, 2010**).
- Dans la papeterie : comme un adjuvant, un liant ou agglomérant entre les fibres du papier (**Klein, 2007 ; Zitouni, 2010**).
- Dans l'industrie de peinture, vernis, adhésifs, cuirs...etc par la synthèse de latex acryliques (0,1 - 0,5 %), car il améliore la fixation des pigments et leurs tenues et comme un stabilisant d'émulsion pour les encres d'imprimantes (**Klein, 2007 ; Zitouni, 2010**).
- Dans l'industrie du textile : comme un agent imperméabilisant et pour éviter la déformation des vêtements en laine (**Friedman, 2003 ; Klein, 2007 ; Zitouni, 2010**).
- Dans la fabrication des gels d'électrophorèse et de chromatographie (utilisation dans les domaines de la recherche et pour séparer les macromolécules biologiques) (**Friedman, 2003 ; Klein, 2007 ; Zitouni, 2010**).
- Dans la recherche scientifique : comme un agent alkylant pour la modification sélective du groupement SH des protéines et pour les résidus Tryptophane en fluorescence (**Friedman et Mottram, 2007**).
- Dans l'industrie biomédicale et cosmétique : comme un liant et un excipient dans ces produits (**Friedman, 2003 ; Zitouni, 2010 ; INSPQ, 2014**).
- Dans la construction de tunnels et barrages : comme un agent d'étanchéité (**Friedman et Mottram, 2007**).
- Dans l'agriculture : comme un fertilisant et contre l'érosion du sol (**Friedman, 2003 ; Eriksson, 2005 ; (Friedman et Mottram, 2007; Gouvernement Canada, 2009 ; Zitouni, 2010 ; INSPQ, 2014 ; Carrara, 2018)**).

- Il est aussi utilisé comme un épaississant ou flocculant dans les coulis, les ciments, les emballages alimentaires et les produits en plastique ainsi dans la préparation des pesticides comme un clarifiant et dans la fabrication des colorants et des lentilles de contact, les capsules à gélatine (gélules) aux fins de rigidité...etc (EC, 2000 ; EURAR, 2002 ; Gouvernement Canada, 2009 ; INSPQ, 2013)

6. La formation de l'Acry dans les aliments :

6.1 Sa découverte au sein des aliments :

En 1998, des analyses indiquent que l'Acry peut se former dans l'alimentation des animaux et des hamburgers cuits (Tareke et al, 2000 ; Erikson, 2005)

Le 9 janvier 2001, Analy Cen and Dept of Environmental Chemistry (ACDEC) détecte des taux élevés d'Acry jusqu'à (700µg/kg) dans la purée de pomme de terre frite (Erikson, 2005)

En avril 2002, un groupe de chercheurs de l'université de Stockholm et de l'Agence nationale suédoise d'alimentation (S N FA) ont prouvé pratiquement que la cuisson à haute température (<120°C) soit par la friture, le routissage ...de certain denrées alimentaires consommées quotidiennement (en particulier les aliments riches en glucides comme les céréales, les frites et les chips, la pâtisserie, le pain de mie...etc) pouvait entraîner la formation d'un composé c'est de l'Acry (en quantités relativement élevées et inattendues) (Friedman et Mottram, 2005 ; KLEIN,2007; Gouvernement du Canada, 2009 ; ATSDR , 2012; Carrara,2018).

Peu après de cette découverte, des différents recherches ont été entrepris afin d'expliquer sa néogènese au sein des aliments et finalement ils ont établi qu'il était formé par le biais de la réaction de Maillard (RM) (OMS, 2003 ; Klein, 2007), ensuite d'autres recherches ont conclu que l'Acry peut aussi se néoformer via plusieurs réactions suite à l'intervention des acides aminés libres, des protéines, des lipides ...etc et par la déshydratation , la décarboxylation de certains acides organiques communs: acide malique, acide lactique et acide citrique où d'autres composants mineurs au sein des aliments cuits (FAO/OMS et Heath Implications of Acrylamide in Food, 2002).

6.2 Sa formation au sein des aliments :

6.2.1 La réaction de Maillard :

6.2.1.1 Sa définition :

RM ou le brunissement non enzymatique , non oxydatif est dite complexe , elle se produit entre des composés aminés libres et des composés carbonyles (glucides réducteurs) constitutives des aliments cuits à haute température, séchés ou stockés (**Erikson, 2005**) ; à l'opposition des réactions de «brunissement enzymatique» due à l'intervention d'enzymes (action du système polyphénol oxydase sur des composés phénoliques) et qui sont responsables du brunissement des pommes, des bananes, des champignons...etc (**Friedman, 1996 ; Klein, 2007 ; food and safety authority in Irland, 2009**).

Cette réaction est aussi connue sous l'appellation: réaction de glycation ou glycoxydation au niveau des systèmes biologiques qui peut se produire in vivo à 37°C (réaction de Maillard en milieu physiologique) entre les protéines et les oses accumulés ou libres (comme l'hémoglobine glyquée, l'albumine fructosylé en agissant sur leurs fonctionnements) elle est donc associée au vieillissement physiologique (comme l'apparition des rides au niveau de la peau due au glycation du collagène et sa dégradation) ou pathologique (la détérioration des tissus et des aggravations de maladies chroniques) telles que le diabète en générant d'autres complications au niveau de myocarde, des artères et de la rétine (la rétinopathie diabétique) et la néphropathie...etc (**Machiel et Istasse, 2002 ; Erikson,2005; Frederic et al, 2012**)

6.2.1.2 Les étapes de la RM :

La réaction de Maillard est complexe (figure 7) ; elle comprend selon les sources (**Machiel et Istasse, 2002 ; Labusa et al., 2005 ; Cheriot, 2008 ; Carrara, 2018 ; Djellouli, 2018 ; Dongling et al.,2018**) les étapes suivantes :

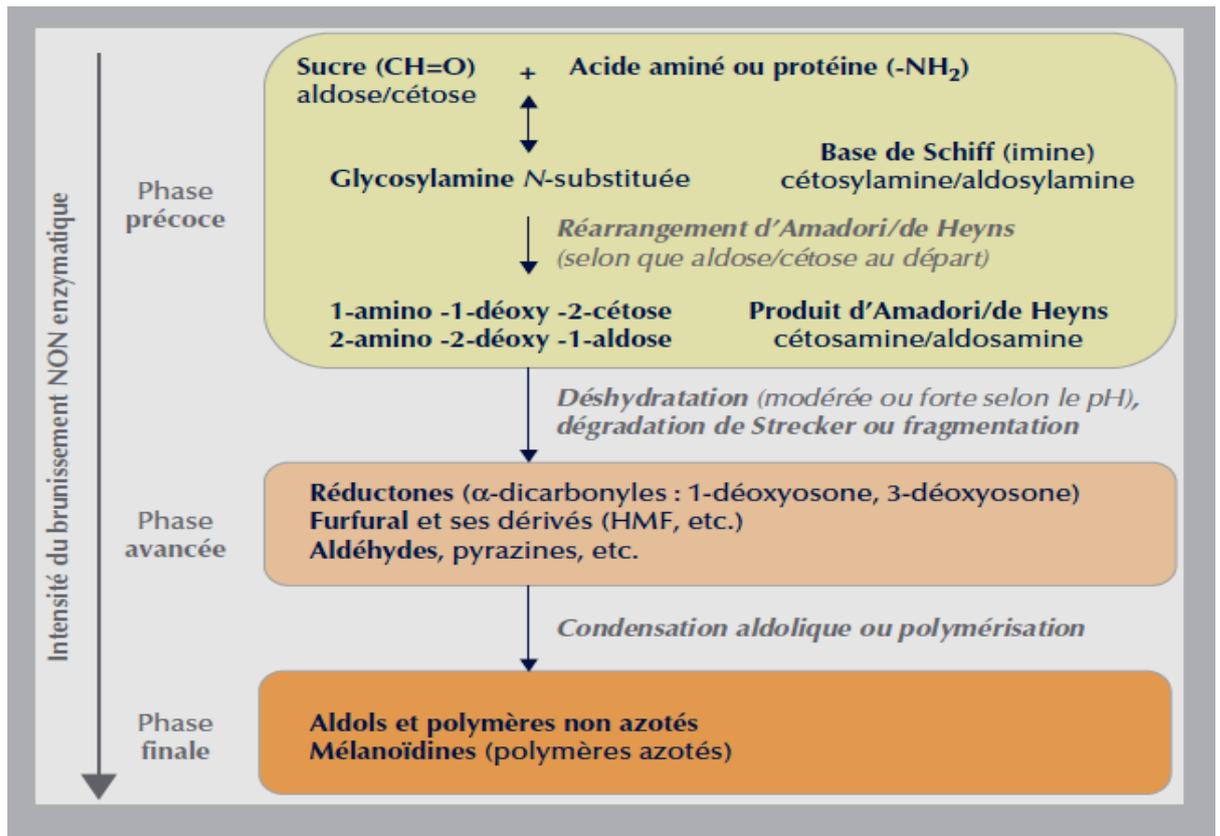


Figure 7: Schéma générale de la réaction de Maillard (Cladière et Camel, 2017).

- **Etape 1: la condensation de Maillard ou des carbonyles-amines;** elle est réversible et elle s'effectue généralement entre le groupement carbonyle d'un sucre réducteur (aldose ou cétose) sous sa forme ouverte et le groupe amine (α ou ε -NH₂) d'un acide aminé (libre ou résidu protéique) en générant de base de Schiff (imine) (figure 8) qui va se cycliser en glycosylamine (des composés instables et fluorescents et peuvent se dimériser) (George et Milton, 1983; Machiel et Istasse, 2002; Cheriot, 2008 ; Fournet , 2016 ; Parisi et Weihui, 2018).

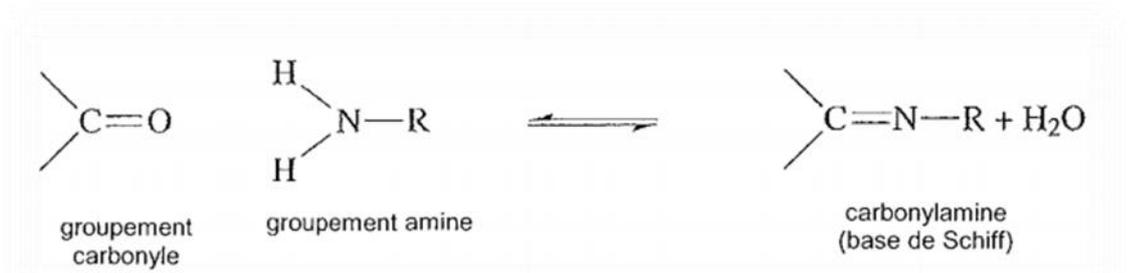


Figure 8: La condensation de Maillard (Klein, 2007)

- **Etape 2 : le réarrangement d'Amadori ou de Hyens** des glycosamines provenant de la condensation d'aldoses ou de cétones, cette isomérisation est irréversible ainsi que spontanée à 25°C en générant respectivement des cétoamines (1-amino-1-désoxy-2-cétose) par le **réarrangement d'Amadori** ou des aldosaamines (2-amino-2-désoxy-1-aldose) par le **réarrangement de Hyens** (figure 9) (George et Milton, 1983 ; Machiel et Istasse, 2002 ; Fournet, 2016 ; Parisi et Weihui, 2018)

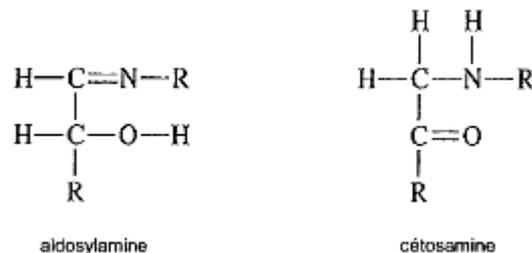


Figure 9: Les produits du réarrangement d'Amadori et de Hyens (Klein, 2007).

- **Etape 3 : Enolisation ou scission** ; chimiquement les produits de l'étape précédente ont une tendance à former des réductones ou des composés odorants par le biais de ces voies réactionnelles organisées par ordre de dominance et selon le pH :
 - **La déshydratation forte** des produits d'Amadori : ou l'énolisation des carbones 1 et 2 (figure 10) des cétosamines dans des pH acides suivis d'un réarrangement et une désamination ce qui génère des réductones (Machiel et Istasse, 2002 ; Fournet, 2016 ; Parisi et Weihui, 2018) .
 - **La déshydratation modérée** ou l'énolisation des carbones 2 et 3(figure 11) des glycosylamines (N-substituée) dans des pH neutres ou légèrement alcalins, leurs produits intermédiaires sont également des réductones et des composés dicarboxylés (Machiel et Istasse, 2002 ; Fournet, 2016 ; Parisi et Weihui, 2018).
 - **La scission** : la coupure des cétosamines et aldoses issues des réarrangements de l'étape 2 donne des polymères et des produits odorants suite à sa condensation (Perrotin, 2004 ; Fournet, 2016).

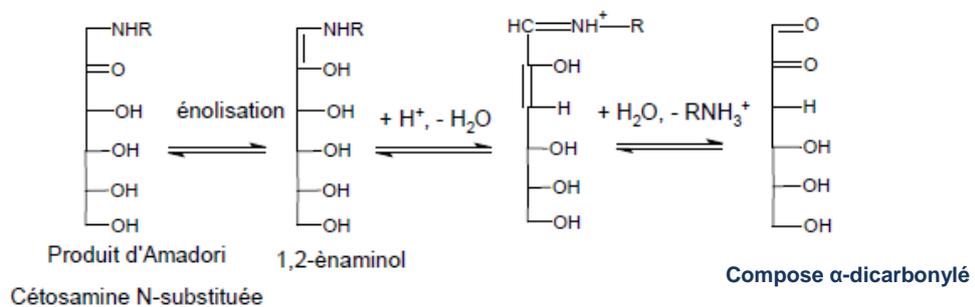


Figure 10: La déshydratation forte (Cheriot, 2008).

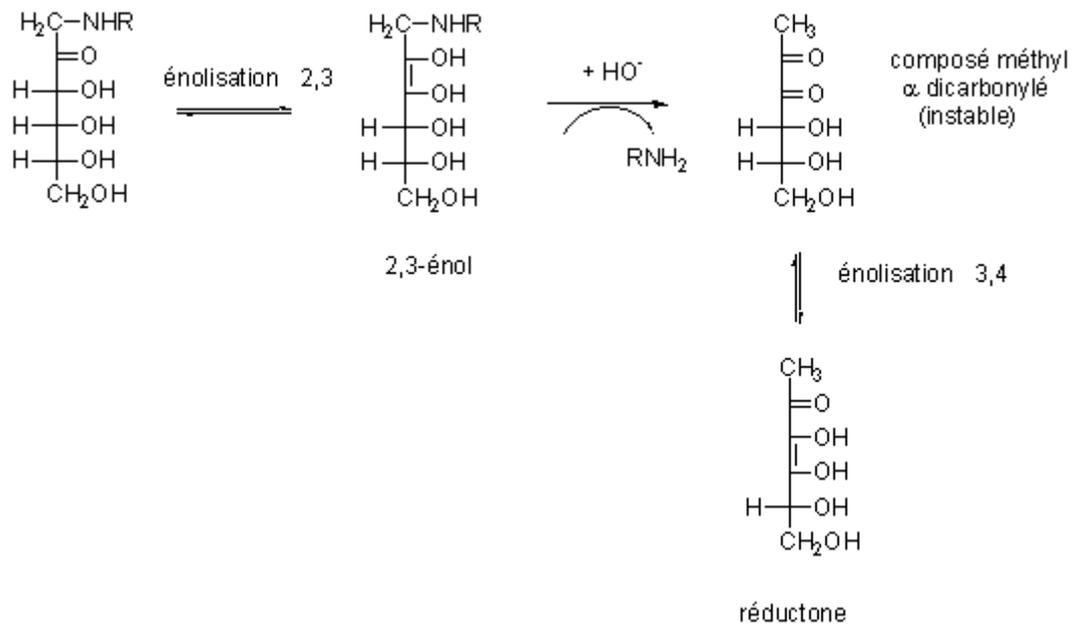


Figure 11: La déshydratation modérée (Perrotin, 2004).

- Etape 4 : Dégradation de Strecker** les réductones issus des deux types d'énolisation aboutissent à la formation des composés mono et dicarbonylés et sa cyclisation peut engendrer des furfuraldéhydes (Parisi et Weihui, 2018), la dégradation de Strecker (figure 12) est dite réaction autocatalysée par les réductones ou sa condensation avec des acides aminés libèrent des aldéhydes de Strecker (des composés aromatiques) et des α -amino-cétones (produits secondaires) pouvant même réagir par :
 - Une décarboxylation ou une désamination oxydative en régénérant les réductones (Machiel et Istasse, 2002).
 - Une condensation pour générer des composés odorants comme les pyrazines...

Acrylamide : synthèse bibliographique

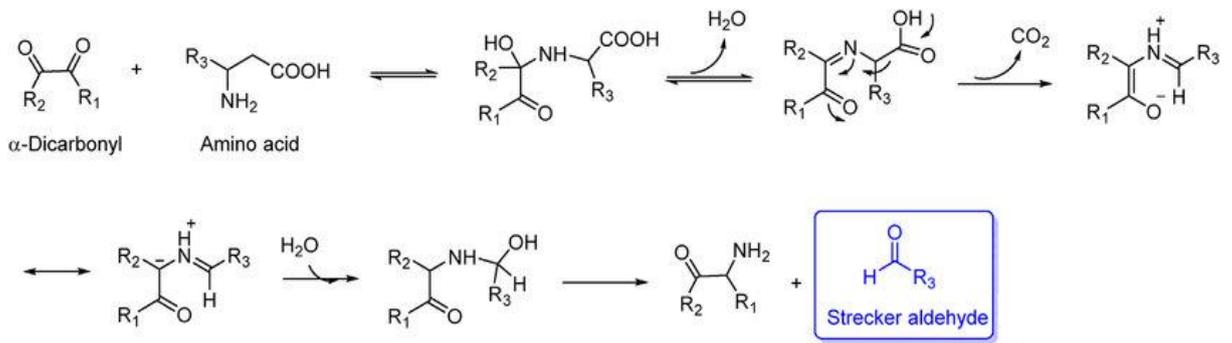


Figure 12: La dégradation de Strecker (Machiel et Istasse, 2002).

- **Etape 5 : La polymérisation** des intermédiaires des étapes précédentes spécialement des composés carbonylés insaturés en générant :
 1. Soit de composés de haut poids moléculaire : **les mélanoïdines** (figure 13) sous forme de polymères bruns avec une solubilité différente (insoluble ou peu soluble) et des taux variables d'azote responsable du durcissement et de l'intensité du brunissement des matrices alimentaires (Machiel et Istasse, 2002).
 2. Soit de composés de bas poids moléculaires (qui renferme quatre unités monomériques) ; ils pourraient être des précurseurs des mélanoïdines (Machiel et Istasse, 2002).

Jusqu'à présent, la chimie de ces réactions n'a pas encore été élucidée et reste méconnue.

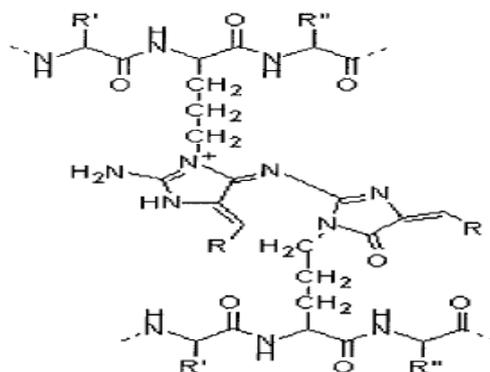


Figure 13: La structure de mélanoïdine : produit final de la RM (Kelein, 2007).

6.2.2 La formation d'acrylamide par la réaction de Maillard :

Des travaux multiples dans différents pays ont contribué afin d'expliquer le mécanisme réactionnel de la formation d'Acry dans les aliments, parmi les méthodes utilisées le marquage par le ^{15}N d'asparagine...etc, ils ont établi que sa formation par la RM exige la présence d'asparagine et des sucres réducteurs (glucose, fructose...etc) essentiellement dans les denrées alimentaires cuits à haute températures ($>120^\circ\text{C}$) (Kelein ,2007 ; Keramat et al., 2010 ; Djellouli, 2018).

Comme c'était démontré auparavant (les étapes de la RM), on tire brièvement l'attention sur le mécanisme principal qui était suggéré (figure 14) :

D'abord, la condensation de Maillard est effectuée entre le groupement amine d'asparagine libre et le groupement carbonyle de glucose ou de sucre réducteur, en libérant le N-glycosyl d'asparagine, son hydrolyse génère en équilibre une base de Schiff, cette dernière va subir une décarboxylation et elle entraîne la formation d'un dérivé décarboxylé, sa tautomérisation engendre par la suite un composé d'Amadori décarboxylé qui produit directement l'Acry par le biais d'une élimination d'un aminocétone (suite à un clivage de la liaison β carbone – nitrogène) (Mustafa,2008). Le 3-aminopropionamide ; transitoirement c'est le produit de la deuxième décarboxylation de la base de Schiff ou l'hydrolyse de cet intermédiaire ainsi que l'élimination d'ammonium forme aussi l'Acry (Kelein ,2007 ; Mustafa, 2008 ; Djellouli ,2018 ; Pundir et al.,2019).

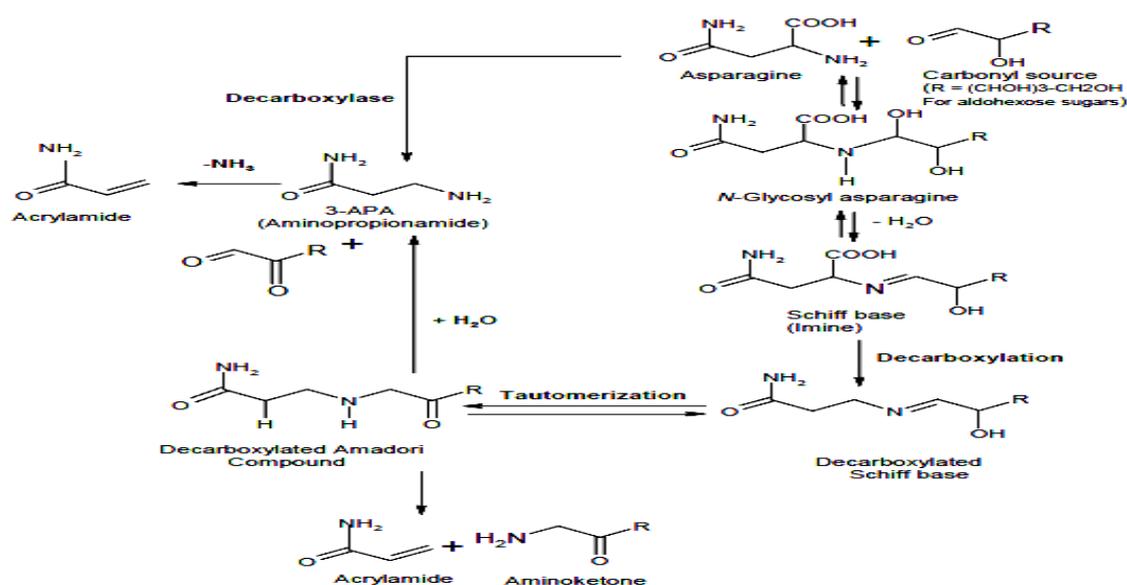


Figure 14 : Mécanisme proposé de la formation d'Acry par la RM (Mustafa, 2008).

D'autres dérivés de base de Schiff (Schiff base bétaine, Oxazolidin-5-one, deoxysones...etc) ont été proposés comme des intermédiaires pouvant former l'Acry après des réarrangements et des décarboxylations...etc (figure 15) en outre qu'il existe d'autres suggestions suite à des réarrangements d'Amadori, de Hyens, dégradation de Strecker, de réductions et de déshydratations... etc qui participent à la formation d'Acry comme des voies alternatives (**Pundir et al., 2019**).

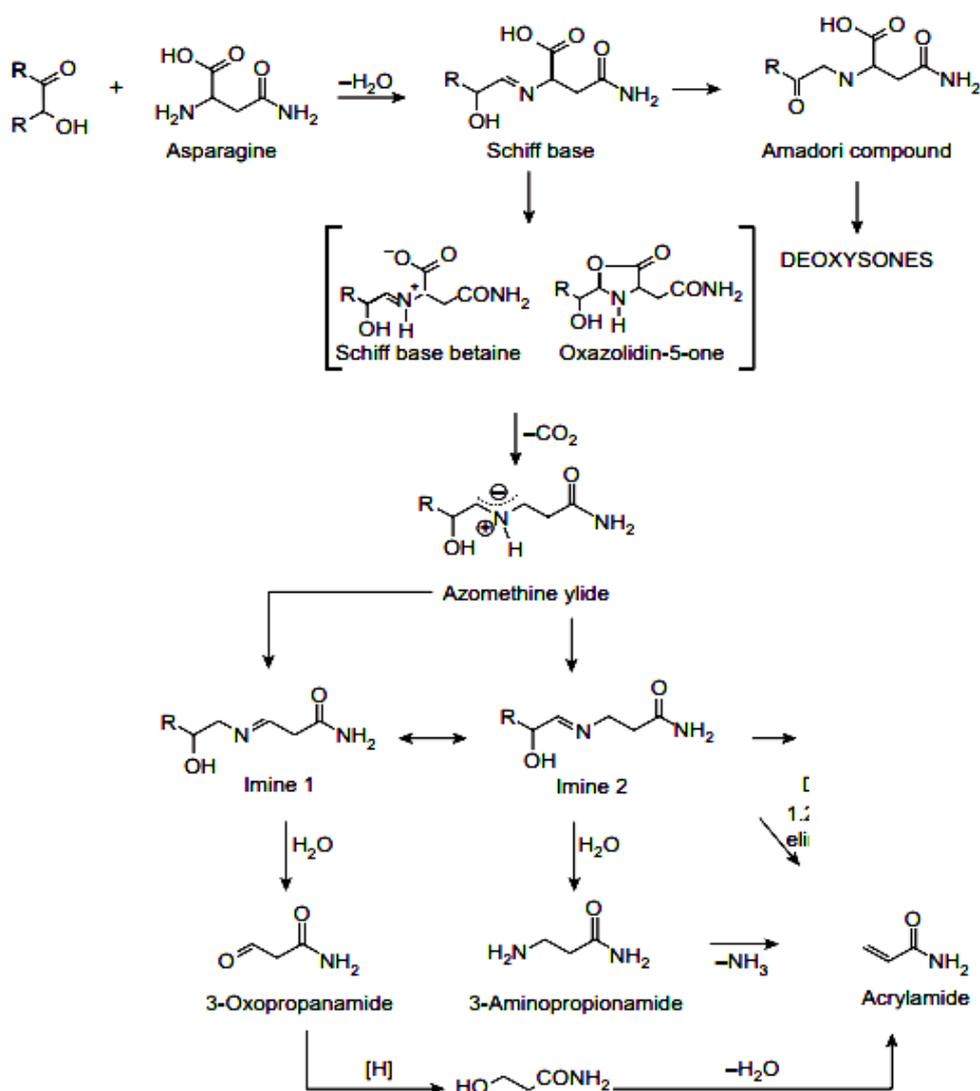


Figure 15: Mécanisme alternatif de la formation d'Acry (**Gökmen, 2016**).

Les paramètres majeurs influençant cette formation sont : la nature des réactants ainsi que sa teneur dans les aliments, le couple temps-température, le pH, l'humidité et la présence d'inhibiteur ...etc (**Kelein, 2007**), il existe une corrélation positive

entre la température, le temps de cuisson, le taux de brunissement des aliments et la production d'Acry contrairement à l'activité d'eau, la présence d'antioxydant... etc qui peuvent réduire cette formation jusqu'à 60 % (**Cladière et Camel, 2017**).

6.2.3 Autres mécanismes de formation d'Acry :

La formation d'Acry à travers l'asparagine et les sucres réducteurs est considérée comme une voie dominante, cependant il existe d'autres voies secondaires qui nécessitent d'autres précurseurs, tels que :

- 1) L'acroléine : c'est le produit de la déshydratation du glycérol et la dégradation des triglycérides par l'oxydation, suite à un traitement thermique des huiles ou des aliments riches en matière grasse ; la formation de l'Acry est possible (**Erikson, 2005 ; Kelein, 2007 ; Cladière et Camel, 2017 ; Djellouli, 2018 ; Pundir et al., 2019**).
- 2) L'aide acrylique : la décomposition thermique des aliments riches en l'acide aspartique, la carnosine et la β -alanine particulièrement les viandes rouges assure la production de l'acide acrylique, mais sa combinaison avec l'ammonium (disponible par le biais de quelques acides aminés chauffés comme la cystéine, la glutamine, l'asparagine...etc) génère l'Acry (**Erikson, 2005**).
- 3) Le 3-aminopropionamide : c'est un intermédiaire transitoire au cours du mécanisme principale de la formation d'Acry à partir de l'asparagine, mais la décarboxylation enzymatique de ce dernier (figure 14) ainsi leur interaction avec l'acide pyruvique peut engendrer un précurseur (3-aminopropionamide) essentiel à la formation d'Acry sous des conditions réactionnelles bien déterminées (**Erikson, 2005**).
- 4) L'acide pyruvique : la sérine ou la cystéine peut entraîner la formation de l'acide pyruvique, sa réduction en acide lactique et sa déshydratation assure la production d'acide acrylique (précurseur d'Acry) (**Erikson, 2005**).

Le schéma ci-dessous (Figure 16) résume ces mécanismes de la formation d'Acry :

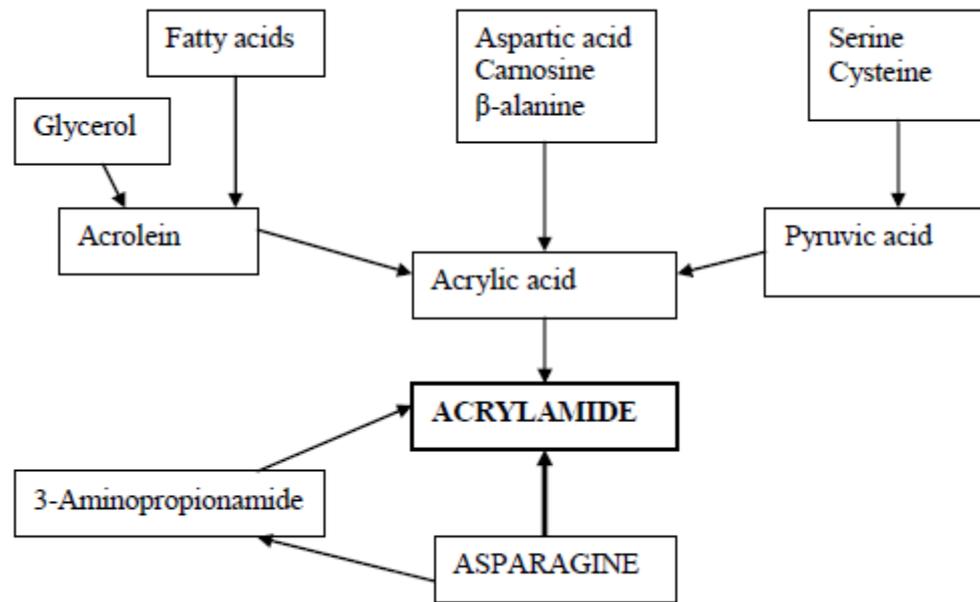


Figure 16: Schéma récapitulatif des voies secondaires de la formation d'Acry (Erikson, 2005).

7. Le dosage des aliments :

Depuis la découverte d'Acry dans les aliments, de nombreux travaux méthodologiques et des essais d'aptitude interlaboratoires ont été réalisés pour le quantifier au sein des matrices alimentaires, tous ces efforts ont conduit à la mise au point des méthodes d'analyses validées due à leurs sensibilités, sélectivités, stabilités, répétabilité et leurs performances (Afssa, 2005) y compris la chromatographie en phase gazeuse (CG) et chromatographie en phase liquide (LC), ces deux sont généralement couplées au spectromètre de masse (SM) comme détecteur (EFSA, 2015; Pundir et al., 2019), actuellement il existe des méthodes rapides mais non validées.

7.1 Les étapes du dosage :

Les protocoles d'analyse comprennent l'extraction, l'échantillonnage ainsi qu'une purification, ces éléments critiques assurent la récupération de l'analyte à partir des aliments (Yusà et al., 2011), mais ils doivent être ajustés selon la matrice à analyser contrairement aux techniques instrumentales qui sont toujours les mêmes (Erikson, 2005 ; Carrara, 2018).

7.1.1 L'échantillonnage :

L'homogénéisation des échantillons à analyser est dite cruciale, car elle influence leurs teneurs en Acry si on considère qu'il est distribué de façon hétérogène dans les aliments (concentré à la surface) (**Gökmen, 2016**).

7.1.2 L'extraction :

La solubilité d'Acry consiste que l'extraction doit effectuer par l'eau ou des solvants organiques (le méthanol, l'éthanol, le propanol, l'acétonitrile ainsi qu'un mélange d'éthanol avec le dichlorométhane...etc) selon l'échantillon à analyser et la technique utilisée, en outre qu'une étape de délipidation (par l'hexane, cyclohexane...etc) doit être mise en place avant ou pendant ce processus et même tout dépend à la nature du matrices dont on analyse, vers la fin la centrifugation et la filtration doit être mise en place antérieurement à la purification de l'extrait obtenu (**Dankwah, 2014 ; Pundir et al., 2019**).

Techniquement, pour compenser les pertes et même faciliter la récupération d'Acry, l'ajout d'un standard interne (Acry : marqué par les isotopes suivants ; le deutérium ($^2\text{H}_3$) et le carbone ($^{13}\text{C}_3$)) à l'échantillon au début de l'analyse est dite favorable (**FOA/OMS, 2002 ; Skog et Alexander, 2006 ; Pundir et al., 2019**).

7.1.3 La purification :

La réduction des impuretés nécessite un lavage initial afin de clarifier ces extraits en ajoutant des réactifs Carrez I (ferricyanure de potassium) et Carrez II (sulfate de zinc) permettant une déprotéinisation, une précipitation par les solvants organiques, une filtration, et même parfois un lavage supplémentaire au moyen de SPE (Extraction en Phase Solide: une colonne contenant un adsorbant permettant de récupérer l'analyte malgré sa faible disponibilité) sont effectués pour éliminer les interférents en augmentant ainsi la précision et l'exactitude des mesures analytiques (**Skog et Alexander, 2006 ; Gökmen, 2016; Pundir et al., 2019**).

7.2 Les méthodes analytiques standards :

7.2.1 Chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (GC-MS) :

Il s'agit d'une méthode ancienne applicable pour toutes les matrices, sa limite de détection est de 5-10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (**FAO/OMS, 2002**), elle nécessite une extraction liquide-liquide et une détection par la (CG/SM) (**Kelein, 2007**) et elle se fait généralement avec ou sans dérivation :

- ✓ **Sans dérivation**, c'est difficile voir rarement à l'utiliser, en pouvant y avoir une formation supplémentaire d'Acry in situ en tant qu'artefact (Skog et Alexander, 2006 ; Kelein, 2007 ; Carrara, 2018).
- ✓ **Avec dérivation**, c'est le procédé le plus répandu, il permet de volatiliser l'Acry en augmentant son poids moléculaire et en minimisant sa polarité, résultant par la suite un dérivé avec une affinité électronique ce qui le rend facilement détectable par la GC-MS (EFSA, 2015; Carrara, 2018), cette transformation est assurée par une bromation à travers le brome de potassium ou l'acide bromhydrique (dans un milieu acide), l'hydrolyse de la liaison vinylique génère le 2,3-di-bromo-propionamide (figure 17) (Erikson, 2005 ; Hu et al., 2015) ce dernier est thermiquement instable, il peut donc se décomposer en affectant par la suite la précision de l'analyse, en outre que la procédure de bromination est lente et dangereuse, donc des précautions doivent être prises en considération (Gökmen, 2016), en dehors de cette bromation, la silylation a été utilisée, en générant un autre dérivé volatil c'est le N,O-bis(tri-méthyl-silyl) acrylamide (Kelein, 2007).

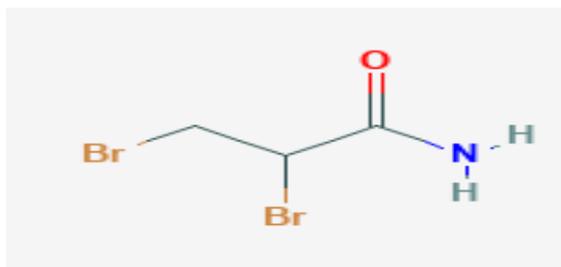


Figure 17 : La structure du dérivé 2,3-di-bromo-propionamide (Pub Chem, 2005).

7.2.2 La Chromatographie en phase liquide à haute performance (CL) :

C'était la méthode la plus recommandée dès l'année 2002 qui était développée par Rosén et Hellenäs et même la plupart des laboratoires l'utilisent actuellement (Skog et Alexander, 2006), sa limite de détection était de 20-50 µg/kg (FAO/OMS, 2002) elle nécessite préférentiellement un couplage à la spectrométrie de masse ou en tandem (CL/SM ou CL/SM/SM) (Klein, 2007), cependant d'autres laboratoires mis en place son couplage avec divers

détecteurs, l'un d'eux utilise le détecteur d'ultraviolets pour doser l'Acry dans une grande variété des aliments suite à une préparation domestique mais cette technique se révèle faible on considère que l'Acry est un chromophore faible (Skog et Alexander, 2006 ; Wong, 2017).

L'avantage de ces méthodes CL par rapport au CG consiste que l'Acry est analysé sans dérivation préalable, ce qui accélère l'analyse significativement et le rendre simplifié (Yusà et al., 2011) en effet, leurs inconvénients c'est qu'elles exigent un lavage lors d'extraction ainsi que le choix des colonnes est dite essentiel (la résolution de colonnes CL est inférieur à celui des colonnes GC) (Skog and Alexander, 2006).

7.3 Des méthodes analytiques rapides :

D'autres techniques analytiques, peuvent être appliquées pour le dosage d'Acry suite à leurs rapidités en se basant principalement sur les propriétés biochimiques de l'Acry et des biomatériaux qui ayant une grande affinité à cet analyte ou aux changements physico-chimiques au sein des aliments, parmi eux, on cite: la colorimétrie qui mesure la concentration de brunissement, sa corrélation avec la teneur en Acry renferme une estimation de son taux dans les aliments, cette technique est parfois couplée à l'analyse informatique en se basant sur des algorithmes (figure 18), aussi la technique d'immuno-enzymatique l'ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) est répandus mais le faible poids moléculaire d'Acry nécessite sa conjugaison avec une protéine de transport en améliorant sa immunogénicité vis à vis des anticorps de détection (figure 19), en outre sa biodétection électrochimique par des biocapteurs à base des microorganisme immobilisés (comme la *Pseudomonas aeruginosa*) due à leurs activités enzymatiques d'amidase ou à base d'hémoglobines (figure 20), d'ADN...etc (par la mesure d'adduits) (Thakur et Ragavan , 2012; Hu et al., 2015 ; Pundir et al., 2019) ainsi les sondes fluorescentes peuvent être appliquer...etc, ces méthodes sont considérées comme des méthodes sensibles permettant des gains de temps et de couts ainsi qu'une détection des fines quantités d'Acry (Hu et al., 2015 ; Carrara, 2018; Pundir et al., 2019).

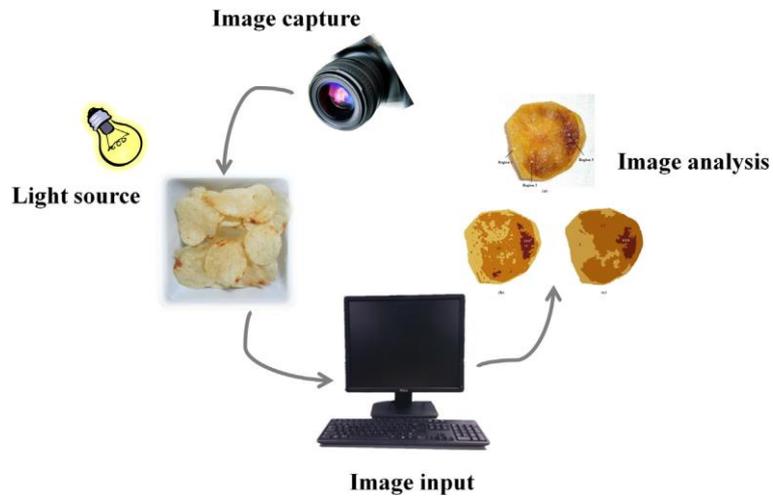


Figure 18 : La représentation schématique de l'Analyse d'Acry par la technique colorimétrie couplée à l'analyse informatique (Hu et al., 2015)

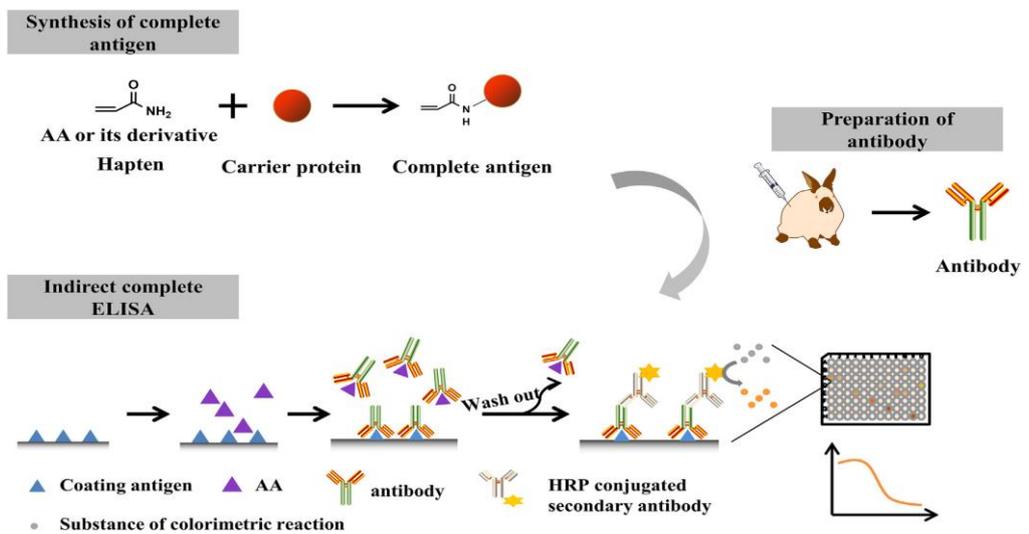


Figure 19: La représentation schématique de l'analyse d'Acry par la technique ELISA (Compétitive indirect) (Hu et al., 2015)

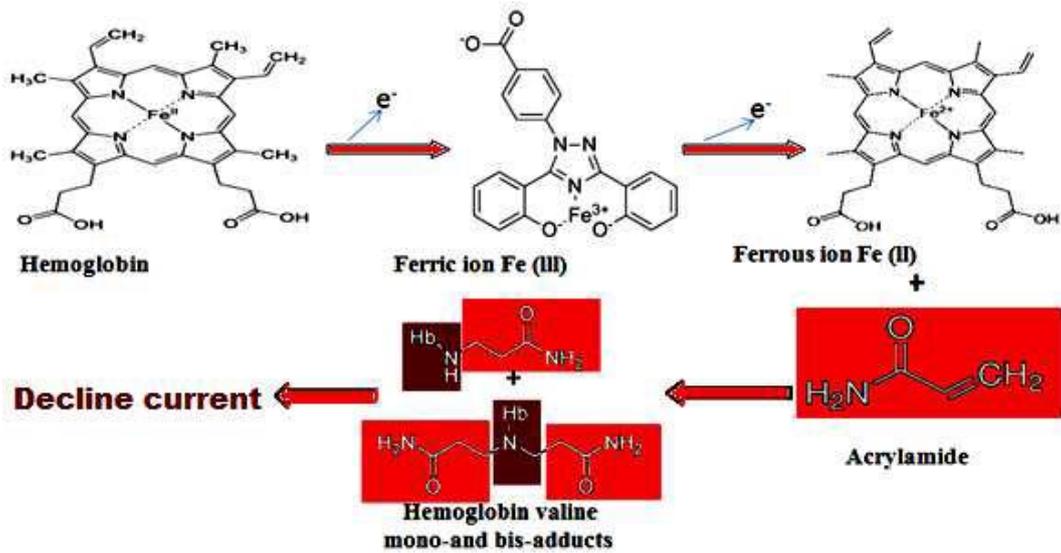


Figure 20: Réactions électrochimiques impliquées dans le fonctionnement des biocapteurs à base d'hémoglobine (Pundir et al., 2019)

Le schéma ci-dessous, résume cette procédure de dosage ainsi que les techniques utilisées qui était démontré au paravent (figure 21) :

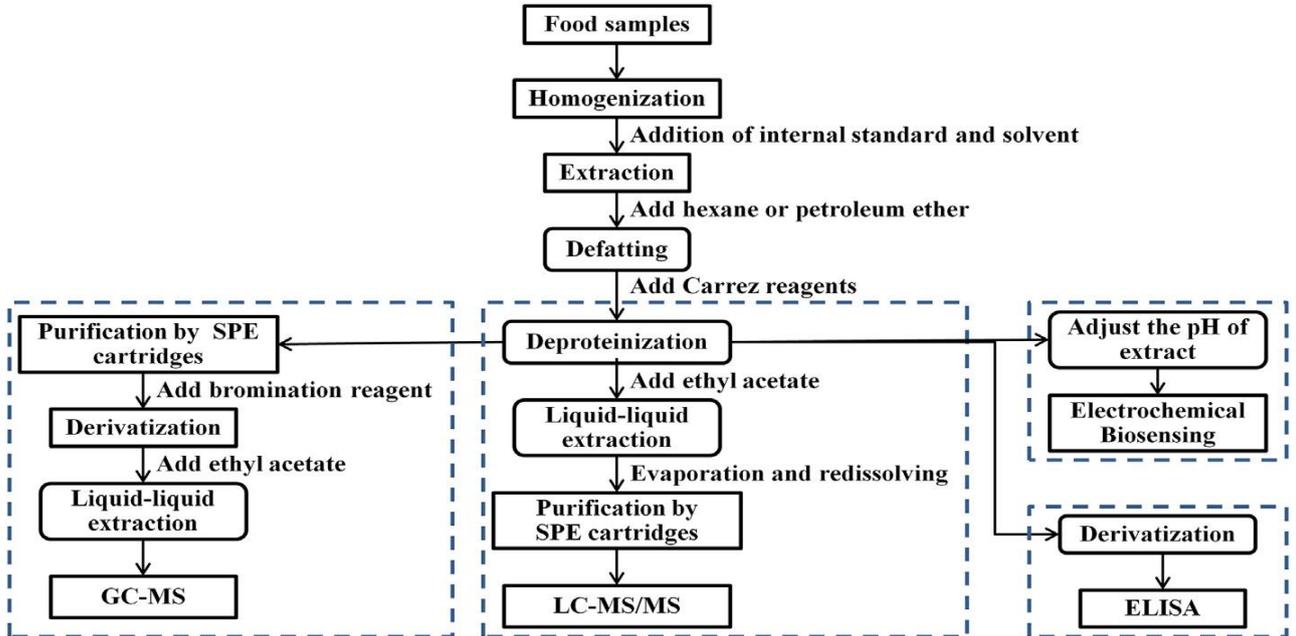


Figure 21: Le protocole et les techniques du dosage d'Acry (schéma récapitulatif) (Hu et al., 2015)

8. Taux d'Acry dans les aliments :

La contamination des aliments cuits par l'Acry nécessite d'être maîtrisable ceci c'était l'objectif des commissions, des agences et des organisations mondiales en évaluant ce risque sanitaire :

Aux Etats-Unis, la FDA (Food and Drug Administration) en collaboration avec les EFSA (European Food Authorities) ont constitué une base de données en ligne accessible au public en exposant la concentration d'Acry dans les aliments, parallèlement, en Europe, une base de données de surveillance a été également créée entre le centre commun de recherche de l'Union Européenne (UE) et l'OMS (**UE/OMS, 2006**).

D'autres organisations ont fondé par la suite des bases de données sur les teneurs de référence d'Acry dans les aliments (**CAST, 2006 ; Wenzl et Anklam, 2011**).

En outre que ces bases de données subissent des mises à jour régulièrement et il est difficile de faire d'autres comparaisons entre eux (**CAST, 2006 ; Kelein, 2007**).

Parmi les aliments contenant les plus grandes concentrations d'Acry, on cite les produits à base de pomme de terre (tels que les frites, les chips), les céréales, les biscuits, les tartes, les gâteaux, le pain, ainsi que le café (**FDA/CFSAN, 2004**).

Selon le FAO et l'OMS, le (tableau 3) montre la teneur d'Acry dans certains aliments :

Tableau 3: Résumé des concentrations d'Acry relevées dans les aliments (FAO/OMS, 2006).

Groupes d'aliments	Groupes de produits alimentaires	Concentration d'ACR	
		Minimale	Maximale
Pommes de terre	Chips	117	3770
	Pommes frites	59	5200
	Pommes de terre (cruées)	<10	<50
	Beignets/croquettes de pommes de terre (frits)	42	2779
Produits à base de Céréales	Pain	<10	130
	Produits de boulangerie et biscuits	18	3324
	Pain grillé	25	1430
	Popcorn (sucré et salé)	57	300
Riz et nouilles	Riz frit	<3	67
	Crackers à base de riz, grillé ou frits	17	500
Fruit et légumes	Olives noires en conserve	123	1925
	Jus de prune en bouteille	53	267
	Légumes frits (y compris les beignets de légumes)	34	34
Poissons et viande	Poisson et produits de la mer, frits dans la	<2	39
	Viande, volaille et poisson en carcasse (frite)	<5	52
Produits à base de Cacao	Produits de chocolaterie	<2	826
	Poudre de cacao	<10	909
Boissons	Café (torréfié)	45	975
	Extrait/poudre de café	195	4948
Aliments pour nouveau-nés/bébés	Biscuits/biscottes pour bébés	<20	910
	Aliments pour bébés en bocaux/conserves	<10	121

9. Les sources d'expositions à l'acrylamide :

L'exposition professionnelle, le tabagisme et les aliments sont les principales sources potentielles d'exposition à l'Acry, bien que les manifestations d'exposition par le biais du tabac et du milieu de travail puissent être importante à l'exposition alimentaire (selon des estimations de mesures d'adduits et de métabolites urinaires), l'exposition aux aliments est évidemment une préoccupation pour toute la population (FAO/OMS, 2002 ; CAST, 2006).

9.1 L'exposition professionnelle :

Elle se produit généralement par inhalation, voie dermique ou par un contact direct des muqueuses lors de la production, usage industrielle, transformation ou la manipulation d'Acry (Kopp, 2009 ; Santacana, 2016).

Afin d'évaluer cette exposition, plusieurs études en milieu professionnel ont été réalisées chez les personnes de laboratoires exposées à ce monomère, où **Bergmark (1997)** a constaté que l'Acry ne représente pas un risque éventuel pour ces types de travailleurs, cependant, chez les ouvriers des usines et des tunnels (Hallandsås), les expositions étaient extrêmement élevées, entraînant une neurotoxicité chez certains cas (**Bergmark et al., 1993 ; Calleman et al., 1994 ; Hagmar et al., 2001**).

Par ailleurs, les études épidémiologiques ne montrent aucune corrélation entre l'exposition à l'Acry, le risque au cancers humains et même la mortalité (**Collins et al., 1989 ; Marsh et al., 2007 ; Swaen et al., 2007 ; ANSES, 2017**).

9.2 L'exposition par les aliments :

Selon les données disponibles, l'exposition alimentaire à l'Acry a pris une part importante de l'exposition totale de la population car les produits contaminés par cet agent sont régulièrement consommés en quantités assez importantes tels que les croustilles, les frites, les céréales, le café, la pâtisseries, les biscuits sucrés et le pain (**FAO/OMS, 2002 ; JECFA, 2005 ; Lineback et al., 2012**), ces aliments contribuent à plus de 80 % des doses d'Acry ingérées (**FAO, 2003 ; Dybing et al., 2005**) ainsi les doses journalières ont été estimées de 0,3-0,8 µg/kg de poids corporel pour la population en générale par des enquêtes fondées sur la consommation alimentaire, cependant ces doses sont multiplier en trois fois chez les enfants par rapports aux adultes (**FAO/OMS; 2002**), cela est probablement due à leurs faibles poids corporels ainsi à la consommation accrue des denrées riches en Acry (les chips et des biscuits) (**Dybing et al., 2005; Wilson et al., 2006**).

D'après une enquête réalisée par (**Belhadj, 2018**) l'exposition moyenne à l'Acry chez les habitants algériens était de 0,2 à 0,4 µg par jour en poids corporel (µg/kg pc/jour).

En outre, ces estimations sont variées d'un pays à l'autre (conformément à des habitudes alimentaires ainsi au mode de préparation des comestibles) (**Dybing et al., 2005**).

9.3 L'exposition par le tabagisme :

La fumée du tabac est considéré comme une source non négligeable secondairement à l'exposition alimentaire en terme d'importance (**Hagmar et al., 2005**), en effet l'Acry est un composé de la fumée de cigarette qui représente

l'origine de cette exposition par voie respiratoire chez les fumeurs (y compris les fumeurs passifs) où le tabagisme serait possiblement une source des concentrations d'Acry dans l'air intérieur (**Gouvernement du Canada, 2009 ; Iris, 2010 ; Brisson et al., 2014 ; EFSA, 2015 ; Goerke et al., 2019**). D'après les études qui ont été menées, les concentrations d'Acry estimée chez les fumeurs sont significativement plus élevées parallèlement aux non-fumeurs (selon des mesures d'adduits), ou le NTP (National Toxicology Program) des États-Unis a estimé que l'exposition moyenne des fumeurs par cet agent était de 3,4 µg/kg de poids corporel par jour (**Santacana, 2016**), ceci confirme que la fumée de cigarette était clairement une source d'exposition importante (**Bergmark, 1997; Schettgen et al., 2004 ; Boettcher et al., 2005; Chevolleau et al., 2007 ; Mojska et al., 2016**).

9.4 Les autres sources d'exposition :

Les rejets d'Acry dans l'environnement sont liés à son usage sous forme de monomère comme polymère (y compris les résidus monomériques présents dans ceux-ci) ces derniers sont employés dans les traitements d'eau et la stabilisation des sols...etc donc, la population serait y exposée via l'eau potable ou l'air (**Gouvernement du Canada, 2009 ; INSPQ, 2014**).

Il existe des limites résiduelles acceptables d'Acry (sa valeur de limite dans l'eau potable est de 0,5µg/L en Algérie, 0,1µg/L en Europe (**Belhadj, 2018**) ainsi que dans l'air est de 103 kg/jour en Europe (**Mnif, 2015**)), malgré ces précautions, des quantités importantes d'Acry ont été rejetées dans l'environnement et comme sa biodégradation est plutôt rapide, cette source d'exposition est dite probable (**Gouvernement du Canada, 2009 ; Mnif, 2015**).

En outre, certains produits cosmétiques et des emballages alimentaires en plastiques contenant de l'Acry libre sont aussi une autre source d'exposition à cet agent par voie cutanée ou ingestion de ces faibles quantités (**FAO/OMS, 2002 ; Santacana, 2016**).

Toutefois, les niveaux d'exposition attribuables par ces deux sources sembleraient bien inférieurs aux doses ingérées par les aliments (**FAO/OMS, 2002**).

10. La toxicocinétique :

Chez l'animal comme chez l'homme, l'Acry est rapidement absorbé quelle que soit les voies d'expositions, il se distribue dans tous les tissus et il peut même traverser la barrière placentaire, sa biotransformation se fait soit par conjugaison au glutathion conduit à la formation des métabolites urinaires, soit par époxydation via la voie du cytochrome P450 générant par la suite un époxyde très réactif qui pourrait être toxicologiquement plus nocif que le composé initial du fait de leurs propriétés cancérogènes et génotoxiques (figure 22).

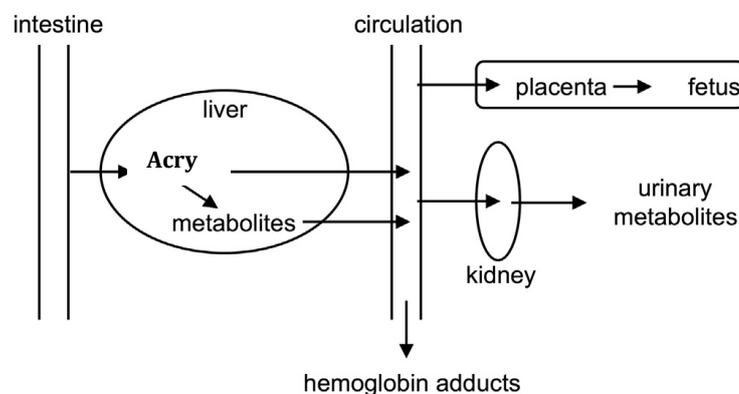


Figure 22: Schéma simplifié de la toxicocinétique de l'Acry (Gökmen, 2016)

10.1 L'absorption :

L'Acry est absorbé par toutes les voies : digestif, respiratoire et cutané, bien que les données sur sa biodisponibilité chez les êtres humains et suite à une exposition alimentaire soient limitées, l'absorption par voie orale est considérée comme rapide et totale chez toutes les espèces selon des mesures d'adduits et des métabolites urinaires (FAO/OMS, 2002 ; Besaratinia et Pfeifer, 2007 ; Huang et al., 2010 ; Selma et al., 2017 ; Matoso et al., 2019).

10.1.1 Voie orale :

L'Acry est rapidement et complètement absorbé par le tractus gastro-intestinal due à son faible poids moléculaire et sa forte solubilité (Miller et al., 1982 ; Dearfield et al., 1988 ; Kadry et al., 1999 ; Fennell et al., 2006 ; Besaratinia et Pfeifer, 2007 ; Claus, 2008 ; Kim et al., 2015 ; Gökmen, 2016) ceci était élucidé par plusieurs études qui ont été faites sur des rongeurs par l'administration orale des doses différentes, en citant : 116 mg/kg, 50 mg/kg d'Acry marqué,

2 mg/kg, par la suite sa diffusion intestinale a été observée après 33 minutes, 38 minutes, et 30 minutes respectivement (**Marlowe, 1986 ; Kadry et al., 1999 ; Kim et al., 2015**), parallèlement, chez l'homme son absorption atteint des degrés élevés dans l'intestin (**Fuhr et al., 2006 ; Sorgel et al., 2002**), selon des études menées sur des volontaires suite à une ingestion des doses en solution aqueuse (0.5 – 1 et 3 mg/Kg) d'Acry radiomarké où ils ont constaté que l'absorption était rapide, importante (40 % de la dose ingérée) et proportionnelle à sa dilution (**ANSES, 2017; INRES, 2019**).

Sa biodisponibilité orale varie selon l'espèce et le mode d'administration où l'Acry solubilisé dans l'eau de boisson est mieux absorbé par rapport au mélange à l'alimentation (**Brisson-Gauthier, 2012 ; ANSES, 2017**), cette réduction est due à sa réactivité au sein des aliments (son interaction avec les groupements nucléophiles des protéines alimentaires conduisant à la formation des complexes mal absorbés via le tractus gastro-intestinal) (**Schabacker et al., 2004**), de plus, elle varie aussi selon le sexe et l'âge (plus importante chez les femelles que chez les mâles et elle est supérieure chez les jeunes rats que les rats plus âgés) (**ANSES, 2017**).

D'un point de vue cellulaire, d'autres études utilisant des cellules Caco-2 différenciées (lignée cellulaire tumorale issue d'un adénocarcinome colique qui représentent un modèle humain de l'absorption intestinale in vitro) indiquent également que l'Acry est facilement absorbé, il pénètre à travers les membranes cellulaires par une diffusion passive (**Schabacker et al., 2004 ; Zödl et al., 2007**).

10.1.2 Voie cutanée :

Des applications dermiques d'Acry indiquent que son absorption par cette voie est aussi rapide (**Mukhtar, 1981 ; Ramsey, 1984 ; ANSES, 2017**).

Chez des rats mâles F344, l'application cutanée de 162 mg / kg d'Acry marqué montre que 22 % de la dose a été absorbé durant les premières 24 heures (**Sumner et al., 2003**), des tests in vitro sur des échantillons de peau de rats F344 renseignent également sur la facilité et la rapidité de son absorption cutanée (**Anses, 2011**).

D'autre part, les expériences de (**Fennell et al., 2005, 2006**) suite à l'application dermique d'une solution à 50 % d'Acry radiomarké sur une surface de 24 cm² de l'avant-bras pendant trois jours chez des volontaires masculins rapportent que 30 à

35% de la dose administrée serait absorbée chez ces sujets, par contre, la comparaison entre ces voies d'exposition orale et cutanée atteste que les niveaux d'absorption de l'Acry ont été plus importants par la voie orale que par la voie cutanée, en suggérant que la peau constitue une barrière qui ralentit l'absorption de l'Acry et entraîne une biodisponibilité systémique limitée (**Fennell et al., 2006**).

10.1.3 Voie respiratoire :

Aucune étude expérimentale animale n'est actuellement disponible sur l'exposition à l'Acry par voie respiratoire, seulement une étude épidémiologique chez les travailleurs exposés professionnellement à cet agent par inhalation et par voie cutanée suggérant que l'exposition dermique était la voie d'absorption prédominante chez ces travailleurs car les données sur l'absorption pulmonaire ont été uniquement qualitatives (**Bergmark et al., 1993 ; Hagmar et al., 2001 ; ANSES, 2017 ; INRS, 2019**).

10.2 Distribution :

Des études indiquent que l'Acry est rapidement et largement distribué dans tous les tissus en se basant sur des techniques de marquage radioactif (**Deborah et al., 1985 ; Marlow et al., 1986 ; Miller et al., 1992 ; Kirman et al., 2003 ; Gökmen, 2016 ; Santacana, 2016 ; INRS, 2019**), ainsi que plusieurs auteurs concluent que l'Acry ne s'accumule pas dans le corps, toutefois ce composé persiste dans les érythrocytes (environ 120 jours), où il forme des adduits à l'hémoglobine (**Dearfield et al., 1988 ; ANSES, 2017 ; Magdalena et al., 2017**).

La bioconcentration tissulaire préférentielle de l'Acry était variable selon les expériences qui ont été faites par **Miller et al. (1982)** et suite à une intoxication par voie orale, ils ont trouvé que les concentrations les plus élevées de l'Acry marqué (^{14}C) c'était au niveau des muscles (48%), la peau (15%), le sang (12%) et le foie (7%), tandis que les tissus neuronaux et le nerf sciatique contenaient moins de (1%) de cette radioactivité, au niveau des testicules et les tissus adipeux, sa distribution était faible et retardée en raison de leurs teneurs élevées en lipides et sa forte hydrophilicité, en outre que **Marlowe et al. (1986)** ont déterminé que sa distribution était concentrée beaucoup plus au niveau de tractus gastro-intestinal, le foie, le pancréas, les testicules, le cerveau, la vésicule biliaire, l'épithélium de la cavité buccale et de l'œsophage, d'autres **Kirman et al. (2002)** ont trouvé que sa

distribution était élevée au niveau du foie, les poumons et les tissus lymphoïdes, par rapport aux **Kim et al. (2014)** qui ont classé sa bioaccumulation par un ordre croissant au niveau du plasma, le cœur, la rate, les muscles, le cerveau, la peau, l'estomac, l'intestin, les reins, les poumons et les tissus adipeux mais la thyroïde et les tissus adipeux ont la faible teneur de ce composé, ceci montre bien sa distribution dans tout l'organisme.

Par ailleurs, il a été documenté que l'Acry peut facilement traverser la barrière placentaire (**Schettgen et al., 2004**) et excréter dans les fluides comme le lait maternel (**Sorgel et al., 2002**) facilitant le transfert de cet agent au fœtus et au nouveau-nés.

10.3 Métabolisme :

L'Acry est métabolisé essentiellement dans le foie selon deux voies chez l'animale et chez l'homme (figure 23), cependant, il peut être également métabolisé par le tractus gastro-intestinal (**Erdemli et al., 2015 ; Erdemli et al., 2017 ; Gedik, 2018**).

La voie majeure est la conjugaison directe catalysée par la glutathion-S-transférase (GST) ce qui conduit à la formation de N-acétyl-S-(2-carbamoyléthyl) cystéine (AAMA), ce dernier peut être oxydé en son sulfoxyde (AAMA-sul) chez l'homme mais pas chez les rongeurs, cette voie est considérée comme une détoxification cruciale due au taux élevé de glutathion (GSH) des cellules hépatocytaires et à l'affinité de l'Acry vis-à-vis ces groupements thiols (SH) (**Miller et al., 1982; Fennell et al., 2006 ; Kopp, 2009 ; Watzek et al., 2013 ; EFSA, 2015**).

La seconde voie est une oxydation (phénomène saturable) par des monooxygénases cytochrome P450 dépendantes (CYP450 2E1) générant le glycidamide (Glyc) ; un époxyde très réactif que l'Acry envers l'ADN et les protéines (**Calleman et al., 1990 ; Segerbäck et al., 1995 ; Sumner et al., 1999 ; Ghanayem et al., 2005b ; Kelein, 2007 ; Ghanayem, 2008 ; Gökmen, 2016 ; Magdalena et al., 2017; Karimani et al., 2019 ; Matoso et al., 2019 ; Zhivagui et al., 2019**), cette voie se révèle moins importante et tardif à la conjugaison (n'apparaît qu'après une déplétion de GSH) chez l'homme que chez les rongeurs (**Watzek et al., 2013**), en plus le degré d'oxydation est plus important chez les

souris que les rats que les êtres humains (**Sumner et al., 1997 ; Dybing, 2005 ; Fennell et Friedman, 2005 ; Fuhr et al., 2006 ; Watzek et al., 2013**). De même que le taux de cette conversion (l'Acry en Glyc) est inversement proportionnel à la dose initiale d'Acry autrement dit : plus la dose est faible, plus la proportion d'Acry métabolisée en Glyc est importante (**FAO/OMS, 2002 ; Doerge et al., 2005a ; CERHR, 2005**), chez les rats le pourcentage de Glyc est estimé vers 51 % pour une dose de 5mg/kg et 13% pour 100 mg/kg suite à une administration intrapéritonéale d'Acry (**Bergmark et al., 1991**), cependant cette hypothèse n'est pas étayée par une étude récente (**EFSA, 2015**).

Le rôle crucial du CYP450 2E1 dans cette oxydation a été démontré par (**Sumner et al., 1999 ; Ghanayem, 2008**) chez les souris knock-out du gène CYP450 et par (**Taubert et al., 2005**) chez des hépatocytes cultivés avec des inhibiteurs de cette enzyme et aussi par (**EFSA, 2015**) ou les valeurs similaires de concentration inhibitrice 50 (IC50) obtenues pour les microsomes hépatiques humains et le CYP450 2E1 recombinant ainsi que l'absence de la Glyc affirme ça, ceci conduit à la conclusion que le CYP450 2E1 est la principale enzyme responsable de l'époxydation de l'Acry (**Ghanayem et al., 2005b**) dont l'activité peut être influencée par les composantes alimentaires, les états pathologiques, les interactions médicamenteuses, le statut physique et hormonal et les polymorphismes génétiques (**Bolt et al., 2003 ; EFSA, 2015**).

Le Glyc peut être également métabolisé par conjugaison au GSH (voie de détoxification rapide) en deux isomères N-acétyl-S-(2-carbamoyl-2-hydroxyéthyl) cystéine (GAMA) que le N-acétyl-S-(1-carbamoyl-2 hydroxyéthyl) cystéine (iso-GAMA) ou encore hydrolysé par l'époxyde hydrolase en 2,3-dihydroxypropionamide (glycéramide), hormis sa conjugaison au GSH, son hydrolyse se révèle une voie de détoxification mais moins importante (**Sumner et al., 1992 ; Boettcher et al., 2006 ; Fennell et al., 2006 ; EFSA, 2015 ; Gökmen, 2016**).

Les métabolites AAMA (métabolite majeur), AAMA-sul, GAMA et iso-GAMA (métabolite mineur) se sont des acides mercapturiques excrétés principalement dans l'urine (**Sumner et al., 1992 ; Boettcher et al., 2006 ; Fennell et al., 2006**).

Un aspect important de la détoxification se revête par la conjugaison, c'est qu'elle réduit la réactivité de l'Acry en minimisant sa conversion en Glyc (Gökmen, 2016), néanmoins une forte dose d'Acry peut inhiber le GSH ou provoquer sa déplétion (Dixit et al., 1981 ; Zödl et al., 2007), ce qui amplifie son oxydation en Glyc par la voie du CYP 450 (Odland et al., 1994).

L'Acry et le Glyc forment des adduits (cette formation est dite dose dépendante) qui ont été utilisés comme bioindicateurs ou marqueurs d'exposition (FAO/OMS, 2005 ; Hagmar et al., 2001 ; Kelein, 2007 ; Magdalena et al., 2017 ; INRS, 2019 ; Matoso et al., 2019).

Les études toxicologiques de l'Acry montrent bien que la généralisation de ces données de l'animal à l'homme nécessite de prendre en considération tout différences qualitatives et quantitatives de la biotransformation dues à la variabilité génétique des monooxygénases et des glutathion-S-transférases inter-espèces et intra-espèces, où deux individus peuvent métaboliser différemment ce xénobiotique, notamment en cas de diabète, d'obésité, de consommation d'alcool ou de jeûne (Klein, 2007).

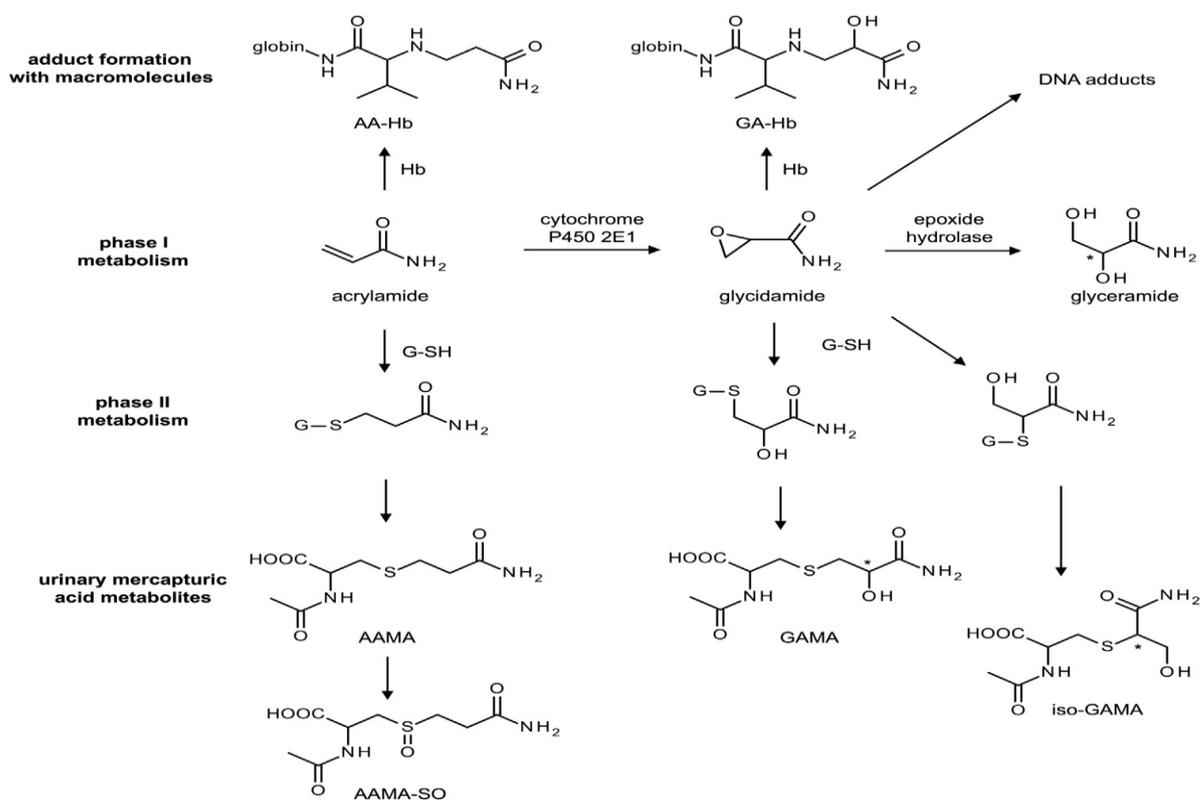


Figure 23 : Principales voies métaboliques de l'Acry (Gökmen, 2016).

10.4 Elimination :

L'élimination de l'Acry est rapide et elle se fait principalement par voie urinaire sous forme d'acides mercapturiques, environ 71% est excrété dans l'urine sous forme de métabolite, moins de 2% est éliminé sous forme d'Acry inchangé dans l'urine, 6% est excrétée dans les fèces par voie biliaire et 4 à 6% dans l'air expiré sous forme de CO₂ (Miller et al., 1982; Sumner et al., 1992; Sumner et al., 1999; Kadry et al., 1999; Barber et al., 2001; Kirman et al., 2003; IRIS, 2010; ANSES, 2011; INRS, 2019). Une excrétion de l'Acry et ses métabolites dans le lait maternel a également été décrite (INRS, 2019).

Dans les tissus, l'élimination totale (Acry et ses métabolites) suit un modèle biphasique avec une demi-vie d'environ 5 heures pour la première phase et de 8 jours pour la deuxième phase, la première peut représenter l'évacuation d'Acry et ces métabolites, alors que la deuxième phase reflète probablement la dégradation des adduits protéiques et peut être même la libération tissulaire de ces métabolites (Miller et al., 1982).

Dans le sang, l'Acry a une demi-vie d'environ 2 heures, cette durée est considérée comme courte, et de ce fait il est impossible de s'accumuler dans l'organisme (Miller et al., 1982), d'autre part, Calleman (1996) a noté qu'il s'agit d'une demi-vie relativement lente vue que l'Acry est un composé chimique électrophile.

Chez l'homme Fennell et al. (2005) ont rapporté qu'environ 34% de la dose administrée par voie orale (3 mg/kg d'Acry) chez des volontaires mâles adultes a été retrouvée dans l'urine durant les 24 heures suivant l'administration, ainsi la demi-vie de l'Acry libre selon certaines études était d'environ 3,25 heures (Fennell et al., 2006), de 2,2 à 7 heures (Sörgel et al., 2002), et de 4,6 heures (Calleman, 1996), cette fluctuation entre les sujets pourrait être due à une forte variabilité de la biodisponibilité orale ou du métabolisme hépatique.

De plus, l'élimination de l'Acry a été considéré plus lente chez l'homme comparativement aux rongeurs (Calleman, 1996 ; Fennell et al., 2005, 2006).

11. La biosurveillance d'acrylamide :

Les biomarqueurs d'exposition, d'effets ou bien les bioindicateurs biologiques servent à évaluer toute exposition aux xénobiotiques comme : l'Acry, sa biodisponibilité, son métabolisme, sa dose interne, ainsi son risque sanitaire (**Gökmen, 2016**).

Des études rapportent principalement les dosages (soit par la HPLC ou par le test des comètes) des métabolites urinaires, comme les acides mercapturiques, les mesures d'adduits à l'hémoglobine ou à l'ADN et même les fractions libres d'Acry et de Glyc s'avèrent pertinents pour un suivi professionnellement ou suite à une exposition alimentaire sinon par le tabac (**INSPQ, 2013 ; Gökmen, 2016 ; ANSES, 2017**).

12. Toxicité de l'Acry :

12.1 Toxicité aiguë :

Selon la voie d'exposition (cutanée, inhalation ou en cas d'ingestion), l'Acry provoque des irritations de la peau, des yeux et des voies respiratoires, des troubles digestifs comme les nausées et les vomissements, il génère aussi une neuropathie centrale et même périphérique qui se manifeste généralement par une incoordination motrice, l'engourdissement, des tremblements, l'ataxie, l'asthénie, la paresthésie, des convulsions et des confusions ainsi des pertes de mémoire, des hallucinations et des pertes de poids (selon des études expérimentales et épidémiologiques), tous ces signes sont réversibles en quelques jours (**Kopp, 2009**).

D'un point de vue expérimentale, des signes de neuropathie périphérique apparaissent suite à l'administration orale des 5 doses journalières de 45 ou 75 mg/kg pc/j chez les rats ainsi par inhalation, les rats exposés à 15,6 mg/m³ d'Acry (6 h/j, 5 j/semaine, 12 expositions au total sur 16 jours) souffrent d'une perte d'équilibre et d'une incoordination motrice, par contre aucun effet n'est rapporté chez les chiens et les cobayes exposés de la même manière (**INRS, 2019**).

Chez l'homme plusieurs cas d'intoxications aiguës en milieu professionnel et par voie cutanée montrent des signes comme : un rash cutané, une sudation, une desquamation et une dermatose de type acnéiforme de la face palmaire, ces symptômes précèdent constamment l'atteinte neurologique (**ENSES, 2011 ; INRS, 2019**), d'autres

symptômes ont été observés chez une femme de 23 ans (qui avait un ancêtre avec la dépression) après avoir ingéré 18 g de cristaux d'Acry, le sujet présente 5 heures après : des hallucinations une hypotension, des saignements gastro-intestinaux (malgré plusieurs lavages gastriques qui ont été effectués), le syndrome de détresse respiratoire et une hépatotoxicité (à partir du 3ème jour après l'ingestion), les symptômes de neuropathie périphérique persistent 2 mois plus tard (ENSES, 2011).

On considère que la dose létale 50 d'Acry (DL50) chez les rongeurs a été estimée entre 107 à 203 mg/kg (EFSA, 2015 ; Belhadj, 2018).

12.2 Toxicité sub-chronique et chronique :

Chez l'homme, la toxicité de l'Acry suite à une exposition sub-chronique jusqu'au chronique entraîne des manifestations cliniques similaires à sa toxicité aiguë comme une ataxie, des troubles de locomotions qui peut aller jusqu'au paralysie, une faiblesse des muscles squelettiques, des engourdissements des membres, une altération des sensations, la perte de poids et le nystagmus ainsi une irritation cutanée, ces signes ont été observés chez des personnes exposées à l'Acry dans le milieu de travail (Klein, 2007 ; Pennisi et al., 2013 ; INRS, 2019).

Pour cela, les chercheurs suggèrent que le système nerveux est le principal site de sa toxicité chez l'homme (Gold et al., 2004 ; Klein, 2007 ; Hammad et al., 2013).

Pour animal, outre son effet neurotoxique qui est considéré comme un effet prédominant, plusieurs effets ont été documentés en fonction de la dose et de la durée d'exposition.

a) Les effets sur le poids corporel :

L'Acry induit la perte du poids corporel, d'après les différentes études qui ont été mené sur les animaux de laboratoires exposés à des différentes doses et aux périodes d'exposition variables (Gipon et al, 1976 ; ATSDR, 2012; Alrethaia, 2019).

b) Les effets gastro-intestinaux:

Le tractus gastro-intestinal est l'un des tissus le plus exposé à des concentrations élevées d'Acry en raison de sa forte absorption à travers ce tissu (Zödl et al., 2007).

En effet, Acry affecte l'intégrité et l'hémostase de la barrière gastro-intestinale en induisant des modifications histopathologiques où il produit une érosion de la

muqueuse gastrique associée à une inflammation et une hémorragie (**El-Mehi et El-Sherif, 2015**).

An niveau de l'intestin grêle Acry altère la structure histologique, le renouvellement et l'innervation de l'épithélium intestinale (**Dobrowolski et al., 2012**), l'exposition durant la gestation chez les cobayes, montre que l'Acry engendre des effets néfastes sur l'intestin grêle des portées caractérisés par une diminution de l'expression de la cadhérine dans l'épithélium, une diminution du nombre des cryptes dans le duodénum et le jéjunum, un rétrécissement de la sous muqueuse et la musculature, outre une hypertrophie de plexus myentérique (**Tomaszewska et al., 2014**), de plus, il provoque un raccourcissement voir une dégénérescence des villosités d'iléon en affectant l'absorption intestinale, il réduit l'expression des protéines: occludine et claudine de même il augmente la teneur en LPS: Lipo-Poly-Saccharides (en affectant la microbiote) (**Tan et al., 2018**).

Dans le côlon, l'Acry est également perturbé l'hémostase de la muqueuse colique en modifiant la synthèse et la sécrétion de mucus (une double-couche constituant une première barrière de défense de la paroi intestinale) par la génération d'un déséquilibre entre la prolifération et la différenciation des cellules caliciformes (responsable de la sécrétion de mucus) chez des jeunes rats (**Koledin et al., 2016**), et il entraîne pareillement la dégénérescence des cryptes de Lieberkühn et des lésions de l'épithélium (**Gedik et al., 2018**).

Bien que le mécanisme exact de cet effet soit encore mal connu, les données disponibles proposent que le stress oxydatif soit la principale cause de ces altérations (**Sadek, 2012 ; El-Mehi et El-Sherif, 2015 ; Erdemli et al., 2015 ; Koledin et al., 2016 ; Chen et al., 2016 ; Koledin et al., 2016 ; Gedik et al., 2018**).

c) Les effets cardiovasculaires :

L'Acry affecte la physiologie des cardiomyocytes par l'altération de son intégrité (perturbation de la distribution des jonctions et des filaments intermédiaires du cytosquelette), sa morphologie et son équilibre ionique ce qui désynchronise sa contraction en générant des arythmies (selon nombreuses études qui ont été établies in vitro à des diverses doses pendant des durées d'exposition variables), en outre que l'Acry diminue la sensibilité des muscles lisses vis-à-vis des neuromédiateurs comme

l'acétylcholine qui peut modifier par la suite sa contraction (**Brandan et al., 2014**), il induit également une déplétion de systèmes antioxydants au niveau cardiaque (génération des radicaux libres), une inflammation et une perturbation des taux HDL et LDL circulants (à travers sa co-administration avec Aluminium) cette étude a été démontrée chez des rattes (**Ghorbel et al., 2015**).

Histologiquement, Acry génère des hémorragies entre les fibres musculaires myocardiques associées à une dégénérescence et à une perte de striation (**Mansour et al., 2008**).

d) Les effets hématologiques :

L'Acry entraîne une perturbation hématologique voir une anémie chez les rats (**Sharma et Jain, 2008 ; El- Kholy et al., 2012**).

Il endommage les membranes érythrocytaires (par la peroxydation lipidique et protéique) en générant des hématies micronuclées, déformées et en agrégation, l'apparition de l'anémie est comme une conséquence de la formation d'adduits d'hémoglobine et une diminution de l'indice de la déformabilité érythrocytaire, tous ces signes vont légèrement augmenter la viscosité qui se traduit par une diminution de la fluidité sanguine ce qui peut engendrer des maladies cardiovasculaires (**Okan et al., 2010**).

Chez de jeunes rats, il induit une diminution des taux d'hémoglobine, érythrocytaires et d'hématocrite (**Rawi et al., 2012**), la diminution d'hémoglobine peut être due soit à d'une diminution de sa synthèse, soit à une augmentation sa destruction (**Hammad et al., 2013 ; Shrivastava et al., 2018**).

e) Les effets Hépatotoxiques :

L'hépatotoxicité de l'Acry a été signalé après une intoxication aiguë chez une femme qui avait ingéré 18 g d'Acry, malgré cela aucune donnée ne traite cet effet chez l'homme (**Kumar et al., 2018**).

En modèle animal plusieurs études s'accordent que l'Acry induit un stress oxydatif au niveau du foie manifesté par une altération du statut antioxydant et une augmentation des produits d'oxydation protéiques et de peroxydations lipidiques (**Ghorbel et al., 2017**).

Des lésions histologiques et tissulaires sont observées dans le foie comme l'hémorragie, l'inflammation, des nécroses, une dégénérescence, stéatose et des congestions des vaisseaux sanguins (veine centro-lobulaire et les capillaires sinusoides) (**Mansour et al., 2008 ; Rawi et al., 2012 ; Mahmood et al., 2015 ; Gedika et al., 2017 ; Shrivastava et al., 2018**).

Une élévation du taux plasmatique des enzymes hépatiques comme alanine amino transférase (ALAT), aspartate amino transférase (ASAT) et phosphates alcalins (ALP), ainsi qu'une augmentation du taux de triglycérides et de cholestérol, ont été également décrites.

En revanche, l'Acry diminue les taux des protéines totales, et de l'albumine, ceci peut être due d'une synthèse protéique retardée ou un changement dans le métabolisme (**Rawi et al., 2012 ; El- Kholly et al., 2012 ; Soliman, 2013 ; Mahmood et al., 2015 ; Ghorbel et al., 2017**).

f) Les effets sur le système immunitaire :

Les effets de l'Acry sur le système immunitaire notamment sur l'immunité à médiation cellulaire se manifestent par une diminution du pourcentage des lymphocytes T et une diminution des cellules (NK; Natural Killer), d'autre part, il aboutit à une l'atrophie des organes lymphoïdes primaire et secondaire (rate, thymus et les ganglions lymphatiques) (**Zaidi et al., 1994 ; Mansour et al., 2008 ; Yener et al., 2013 ; Zamani et al., 2017**), de plus, au niveau de la rate, l'Acry provoque un stress oxydatif par la déplétion de GSH et l'augmentation de la peroxydation lipidique ainsi qu'une activation de l'apoptose et l'inhibition de la prolifération (**Jin et al., 2014 ; Zamani et al., 2017**).

Pour l'immunité à médiation humorale, l'Acry diminue le taux des immunoglobulines (IgG et IgM) (**Soliman, 2013 ; Khudiar et Ghasag., 2017**) et aussi il inhibe la production de l'interleukine-6(IL-6) (**Jin et al., 2014**).

g) Les effets rénaux :

Les reins constituent l'organe principal d'excrétion de l'Acry, en effet, chez l'animal les effets rénaux s'expliquent à la fois par des lésions glomérulaires où il entraîne l'apparition d'une glomérulonéphrite avec une protéinurie, affectant la filtration plasmatique (**Jmahidi, 2015**) et des lésions tubulaires telles qu'une dégénérescence et une nécrose des cellules épithéliales des tubules rénaux, une perte de

la bordure en brosse et une vacuolisation cellulaire, ainsi qu'une inflammation (Mansour et al., 2008 ; Rawi et al., 2012 ; Mahmood et al., 2015 ; Rajeh et Al-Dhaheri., 2017 ; Shrivastava et al., 2018).

Une étude montre que l'administration d'Acry pendant la gestation induit un stress oxydatif dans les tissus rénaux chez les rattes et leurs fœtus, entraînant des lésions tissulaires et des modifications dans la capsule de Bowman (Erdemli et al., 2018).

h) Les effets sur la reproduction :

➤ **Les effets sur les paramètres reproducteurs :**

De nombreuses expérimentations utilisant différentes doses et durées d'exposition ont permis de mettre en évidence l'effet reprotoxique de l'Acry chez l'animal, alors que chez l'homme aucun effet n'a été observé ou identifié (Kumar et al., 2018 ; INRS, 2019).

En fait, l'Acry réduit la fertilité chez les rongeurs (Sakamoto et Hashimoto, 1986 ; Chapin et al., 1995 ; Tyl et al., 2000 ; Wang et al., 2010 ; AlKarim et al., 2015 ; Kumar et al., 2018), dont chez les rats mâles, l'altération de la fertilité s'implique une diminution du nombre des spermatozoïdes associée à une morphologie anormale et des modifications dans la mobilité (Sakamoto et Hashimoto., 1986 ; Tyl et Friedman., 2003 ; Ma et al., 2011), une atrophie testiculaire, et des lésions histopathologiques dans les tubules séminifères (comme des vacuolisations, une inflammation et des dégénérescences des cellules germinales) (Hashimoto et al., 1981 ; Alkarim et al., 2015) ainsi il baisse les niveaux de testostérone (Yang et al., 2005 ; Camacho et al., 2012), de même, l'exposition à l'Acry chez le rats (à dose de 100 ppm) perturbe la performance de l'accouplement, les processus d'érections et le transport des spermatozoïdes (Zenick et al., 1986 ; Semla et al., 2017).

L'implication du stress oxydant dans la reprotoxicité d'Acry a été également décrite au niveau des cellules de Leydig et de Sertoli, où la diminution de la viabilité cellulaire et une augmentation des espèces réactives d'oxygène (ROS) et une induction de l'apoptose a été mise en place par l'augmentation de l'expression des gènes apoptotiques (Yilmaz et al., 2017 ; Matoso et al., 2019).

Chez les souris femelles, l'Acry entraîne une atrophie des ovaires, altère la qualité de l'ovocyte (**Duan et al., 2015**), diminue le nombre de corps jaune et baisse le taux de progestérone, de la même manière, in vitro il réduit la viabilité des cellules granuloza d'une manière dose dépendante (**Wei et al., 2014**), en plus, il entrave la maturation des ovocytes par la perturbation de la division cellulaire (réduction du fuseaux méiotiques et l'augmentation de la rupture chromosomique) (**Aras et al., 2017**).

L'exposition prénatale chez le cobaye réduit le nombre de follicules ovariens en induisant une atrésie folliculaire médiée par l'apoptose des ovocytes et qui peut être associée à la destruction des filaments de vimentine (**Hulas-Stasiak et al., 2013**).

Dans une autre étude conduite par **Alkarim et al. (2015)** montrent qu'une faible dose d'Acry engendre des modifications dégénératives dans la zone pellucide, des cellules granuloza et des ovocytes chez les rats femelles, en outre que l'Acry affecte la qualité des ovocytes par ses effets sur l'intégrité cytosquelettique, la génération de ROS, l'induction d'apoptose et les modifications épigénétiques (**Duan et al., 2015**).

Par ailleurs, il a été également montré in vitro que son époxyde le Glyc se révèle toxique pour les cellules germinales où il entraîne la dégénérescence de la totalité des ovocytes (**Aras et al., 2017**) par l'induction de l'apoptose suite à la génération des ROS et l'augmentation de la peroxydation des lipides dans les cellules de Leydig lorsque ces derniers sont mis en culture avec Glyc entraînant par la suite une diminution dans la synthèse du progestérone (**Li et al., 2017; Yilmaz, 2019; Matoso et al., 2019**).

➤ **Les effets sur les femelles gestantes et la progéniture :**

Un nombre important d'études chez les rongeurs ont permis de souligner que l'exposition à l'Acry durant la gestation aboutit à une augmentation de la mortalité fœtale et entraîne la perte pré-implantatoire qui pouvait être due en partie à une impuissance du mâle (inhibition de l'érection) ou à des anomalies quantitatives et qualitatives des spermatozoïdes (**Sublet et al., 1989; Klein, 2007; Alkarim et al., 2015**), ainsi que l'Acry diminue la croissance pondérale chez le fœtus à la naissance qui peut être considéré comme un effet secondaires à la toxicité maternelle, de même

l'Acry diminue le nombre des femelles gestantes (**Sakamoto et Hashimoto, 1986 ; Chapin et al., 1995 ; Tyl et al., 2000 ; Tyl et al., 2003**).

Il a été également signalé que l'Acry inhibe le développement de placenta par la réduction de l'expression des gènes placentaires et des vaisseaux labyrinthiques, ainsi par la suppression de la prolifération et l'induction de l'apoptose (**Yu et al., 2018**).

i) La génotoxicité et la mutagénicité :

L'Acry est connue comme un agent génotoxique (mutagène et clastogène) pour les cellules somatiques et germinales in vivo et in vitro, il provoque plusieurs effets génétiques tels que des aberrations chromosomiques, la formation de micronoyaux, des échanges de chromatides sœurs, une synthèse non programmée de l'ADN et des mutations létales dominantes (**FAO/OMS, 2002 ; Wang et al., 2010 ; Beland et al., 2015**), les cellules germinales sont plus sensibles aux ces effets (**Tyl et Friedman., 2003**).

Cependant, de nombreux travaux ont été publiés montrent aussi bien in vitro qu'in vivo une grande partie de cette génotoxicité est attribuée à son métabolite Glyc en raison de ses propriétés électrophiles vis à vis l'ADN comparativement à l'Acry dont sa réactivité à l'ADN semble très faible (**Segeberäck et al., 1995 ; Gamboa da Costa et al., 2003 ; Twaddle et al., 2004 ; Doerge et al., 2005a ; Doerge et al., 2005b ; Doerge et al., 2005c ; Ghanayem et al., 2005a ; Tareke et al., 2006 ; Von Tungeln et al., 2009 ; Zeiger et al., 2009**), mais à des fortes doses son pouvoir génotoxique devient important (**Yang et al., 2005 ; Manjanatha et al., 2006**), alors que son époxyde agit à des doses plus faibles et provoque des mutations (**Besaratinia et Pfeifer., 2003,2004**).

Le Glyc est génotoxique aussi pour les cellules humaines in vitro, de manière que lorsqu'il est testé sur le sang total humain pendant 4 heures, il induit des dommages de l'ADN des lymphocytes (**Baum et al., 2005**) et sur les cellules épithéliales, il induit des micronoyaux, inhibe la prolifération cellulaire et diminue la viabilité cellulaire (**Bandarra et al., 2013**).

j) Les effets cancérigènes :

En 1994, le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) a classé l'Acry comme étant probablement cancérigène pour l'homme (groupe 2A) (IARC, 1994),

cette évaluation était essentiellement fondée sur la connaissance du pouvoir cancérigène d'Acry chez les rongeurs depuis les années 1980 (**Klein, 2007**), néanmoins, La plupart des études humaines menées n'ont pas permis d'obtenir des données concluantes entre l'association des cancers chez l'homme et l'exposition à l'Acry (**Beland et al., 2013, 2015 ; Zhivagui et al., 2019**).

La carcinogénicité de ce composé a été examinée par plusieurs chercheurs où ils ont observés que chez les rats l'exposition chronique (pendant deux ans) à une forte dose l'Acry provoque une augmentation des tumeurs des testicules et de la thyroïde, de l'utérus et de la des glandes mammaires, et même les tumeurs du système nerveux central (**Johnson et al., 1986 ; Friedman et al., 1995 ; Maronpot et al., 2014**), comparativement chez les souris, il entraîne l'apparition des tumeurs pulmonaires, des tumeurs hépatiques, ainsi il a été également classé comme un agent initiateur de cancérogenèse cutanée (**Robinson et al., 1986 ; Bull et al., 1984 ; Von Tungeln et al., 2012**), de plus, l'exposition prénatal induit des tumeurs dans l'intestin grêle de manière dose-dépendante chez les souris nouveau-nées (**Olstorn et al., 2007**).

Le mécanisme de cette cancérogénicité a fait l'objet de débats, dont l'observation de ces tumeurs particulièrement chez les rats (comme les tumeurs de la glande thyroïde), conduit à proposer qu'une perturbation endocrinienne peut être à l'origine de ces tumeurs, mais les données qui s'appuie cette hypothèse sont limitées (**Bandarra et al., 2013**).

La formation des adduit avec l'ADN est également était proposée comme mécanisme responsable de la cancérogénicité d'Acry (**FAO/OMS, 2002**).

k) Les effets neurotoxiques :

La neurotoxicité de l'Acry a fait l'objet d'études approfondies depuis qu'elle a été signalée pour la première en 1950, elle est la plus étudiée car c'est le seul effet toxique qui a été démontré à la fois chez l'homme dans le cadre d'une exposition professionnelle et dans les expériences sur des animaux, en plus le système nerveux est considéré comme la cible privilégié de l'Acry (**Erkekoglu et Baydar, 2013 ; Semla et al., 2017 ; Matoso et al., 2019**).

D'après les études expérimentales, l'Acry est un neurotoxique pour le système nerveux central (SNC) et périphérique (SNP), il a été reconnu au début comme un agent qui induit des neuropathies périphériques qui se manifestent cliniquement par des troubles de la motricité comprenant des altérations de la locomotion et de la coordination et des faiblesses musculaires, ces signes sont observés chez l'animale et même chez l'homme (**Pennisi et al., 2013**).

En effet, Les premières études morphologiques suggèrent que les anomalies neurologiques provoquées par l'Acry sont due à la dégénérescence axonale distale dans le SNC et SNP causée par une atteinte initiale au niveau des terminaisons nerveuses et une dégénérescence rétrograde subséquente des axones, toutefois, les études récentes montrent que l'Acry perturbe les transmissions nerveuses qui se traduisent par des changements dans la libération des neurotransmetteurs (**LoPachin, 2004 ; LoPachin et al., 1992 ; Kopanska et al., 2018**).

1. L'effet d'une exposition à l'Acry au cours du développement cérébral :

Il est indéniablement prouvé que la prise d'Acry par les femelles gestantes à un effet tératogène sur le système nerveux de la progéniture (**Gökmen, 2016**).

El-Sayyad et al. (2011) ont étudié les effets neurotoxiques de l'Acry sur le développement postnatal où ils ont montré que l'Acry entraîne un retard de croissance et une diminution du poids corporel et cérébral ainsi que l'exposition durant la gestation et la lactation chez les rattes femelles engendre une ataxie, un évasement des membres postérieurs, une faiblesse musculaire et finalement une paralysie ce qui entraîne un changement dans le comportement maternelle traduisant chez les progénitures par une mauvaise lactation et donc une malnutrition et cela entraîne un retard dans l'apparition des poils et l'ouverture des oreilles et des yeux à la naissance (**Allam et al., 2011 et 2013**).

L'Acry nuit directement la synthèse des protéines dans les tissus fœtaux par son effet sur l'ARN et l'ADN (**Tyl et Friedman, 2003 ; Tyl et al., 2000**), en outre qu'il était capable de réguler négativement le système microtubulaire et les neurofilaments chez les embryons de poulet (**Ho et al., 2002**).

Il est également prouvé que l'Acry (à une dose de 15 mg/kg/jour) peut affecter le système visuel, où ils ont montré que l'œil était sensible à la cytotoxicité de l'Acry

pendant la période de lactation, il provoque de nombreux changements histopathologiques tels que les altérations des couches de cellules rétinienne, la dégénérescence et la perte de cellules dans la couche ganglionnaires (**Sakr et al., 2011**).

De plus, des études menées par (**Erdemli et al., 2016**) ont montré que le traitement des mères par l'Acry provoque une dégénérescence des structures neuronales du tissu cérébral fœtal et des lésions hémorragiques ainsi qu'une réduction des niveaux de facteurs neurotrophiques dérivés du cerveau, de même des études in vitro ont montré que l'Acry réduit la prolifération et la différenciation des cellules neuronales progénitrices (**Attoff et al., 2016 ; Matoso et al., 2019**).

➤ **L'effet sur l'hippocampe :**

L'Acry affect la neurogénèse adulte de l'hippocampe en inhibant la prolifération des cellules souches neuronales par induction de l'apoptose et le stress oxydatif (**Park et al., 2010**), de la même manière in vitro il diminue la viabilité cellulaire des cellules du neuroblastome humaine (**Sumizawa et Igisu, 2007**).

➤ **L'effet sur le cervelet et la moelle épinière :**

L'Acry induit des changements structurales au niveau du cervelet chez le rat en développement (**Gökmen, 2016**), en effet, il est noté que l'exposition prénatale et postnatale à l'Acry retarde la prolifération, la différenciation et la migration cellulaire dans la couche granulaire externe du cervelet (**Allam et al., 2013**), outre il entraîne des altérations histopathologiques dans les régions brachiales et lombaire de la moelle épinière chez les rats nouveau-nés dont les mères ont été exposées à l'Acry pendant la gestation et la lactation (**El-Bakry et al., 2013**).

➤ **Les effets sur les neurotransmetteurs :**

L'Acry induit des changements dans les taux de dopamine, de sérotonine et noradrénaline dans différentes régions du cerveau (**Ali, 1983**), il a été décrit que l'exposition durant la lactation chez les rats induit une diminution des taux de noradrénaline dans la moelle épinière et les ganglions de la base, ainsi qu'une diminution de la dopamine dans tous les régions du cerveau et une diminution des taux de sérotonine dans le cervelet, l'hypothalamus et le cortex cérébral chez les progénitures, outre une augmentation de l'activité cérébrale de la monoamine oxydase

et une diminution de l'acétylcholine estérase (**Husain et al., 1987**), d'autre part, (**Pan et al., 2015**) ont démontré que l'administration d'Acry conduisait à l'augmentation des taux de dopamine, ainsi que des changements dans son transport avec une diminution de l'expression de gènes liés au métabolisme dans les neurones dopaminergiques. De même, il a été révélé que l'Acry modifie le nombre et la sensibilité des récepteurs de la dopamine, de la sérotonine et de l'acétylcholine dans le striatum. Il réagit avec plusieurs protéines des cellules nerveuses et les inhibe et il peut être également contribuer à la diminution de la captation de la dopamine au niveau des vésicules synaptiques striataux (**Attoff, 2019**).

Par ailleurs, (**Li et al., 2016**) ont montré que l'Acry induit la dégénérescence des neurones dopaminergiques ainsi que l'agrégation de α -synucléine, qui peut être lié à l'induction de la pathologie parkinsonienne, en outre que l'exposition chronique à l'Acry (100 ppm) augmente la stimulation psychomotrice chez les rats mâles qui peut être lié aux changements dans le système d'inhibition sérotoninergique (**Rafales et al., 1983**).

2. L'Acry et le stress oxydatif :

Plusieurs études in vitro et in vivo ont indiqué que le stress oxydatif joue un rôle crucial dans la neurotoxicité induite par l'Acry (**Mehri et al., 2014**).

L'induction d'un stress oxydant qui comprend l'augmentation de la peroxydation lipidique, une réduction du statut antioxydant et une augmentation des ROS sont responsables à des dommages des macromolécules cellulaires et par conséquent une dégénérescence des tissus neuronaux (**Yousef et El-Demerdash, 2006 ; Zhu et al., 2008**), de plus des niveaux élevés de radicaux libres ont été accompagnés par une perturbation de l'homéostasie intracellulaire en calcium Ca^{+2} qui est liée à un dysfonctionnement mitochondrial et une activation des canaux TRP (transient receptor potential), cette élévation de taux de Ca^{2+} s'amplifie les niveaux des ROS (**Prasad et Muralidhara., 2014**), ce qui conduit à l'activation de l'apoptose où **Tabeshpour et al. (2019)** montrent que l'Acry active la voie de signalisation MAP kinase en augmentant l'expression de la caspase 3 qui aboutit par la suite à une apoptose.

Matériel et méthodes

L'objectif :

Notre étude a été réalisée au niveau de laboratoire de biotoxicologie, pharmacognosie et valorisation biologique des plantes (LBPVBP) - université de Moulay Tahar-Saida- qui consiste à évaluer l'effet neurotoxique de l'Acry sur des souris durant leurs période de développement d'un point de vue neurocomportementale, biochimique et histologique.

1. Matériel biologique :

Le modèle animal qui a été choisi pour nos expériences : des souris (mâles et femelles) de la souche cosanguine *Mus musculus* (provenant de Université de Mascara).

Ces animaux ont été hébergés dans des cages conventionnelles de Makrolon type 3 (L x l x H = 40x25x18 cm) munies d'une mangeoire et un biberon permettant un accès à la nourriture standard (granulés) et à l'eau de robinet *ad libitum* (figure 24).

Avant le début de l'intoxication, les souris ont été acclimatées à l'animalerie durant 10 jours (période d'adaptation) pendant laquelle aucun traitement n'a été administré.

Tout au long de l'expérimentation, ils ont été maintenus dans des conditions standards d'élevage y compris la température : $22\pm 4^{\circ}\text{C}$; le cycle lumière-obscurité de 12h /12h (lumière de 7h à 19h ; en assurant la ventilation, la surveillance et l'entretien de la qualité d'environnement (les litières : bran de scie) et même l'ajustement de l'alimentation et de l'eau régulièrement. Nos expérimentations ont été effectuées entre 9 heures et 18 :30 heures.



Figure 24: Les cages d'hébergement des souris.

- ❖ Le résumé de notre partie expérimentale est représenté dans le diagramme suivant (figure 25) :

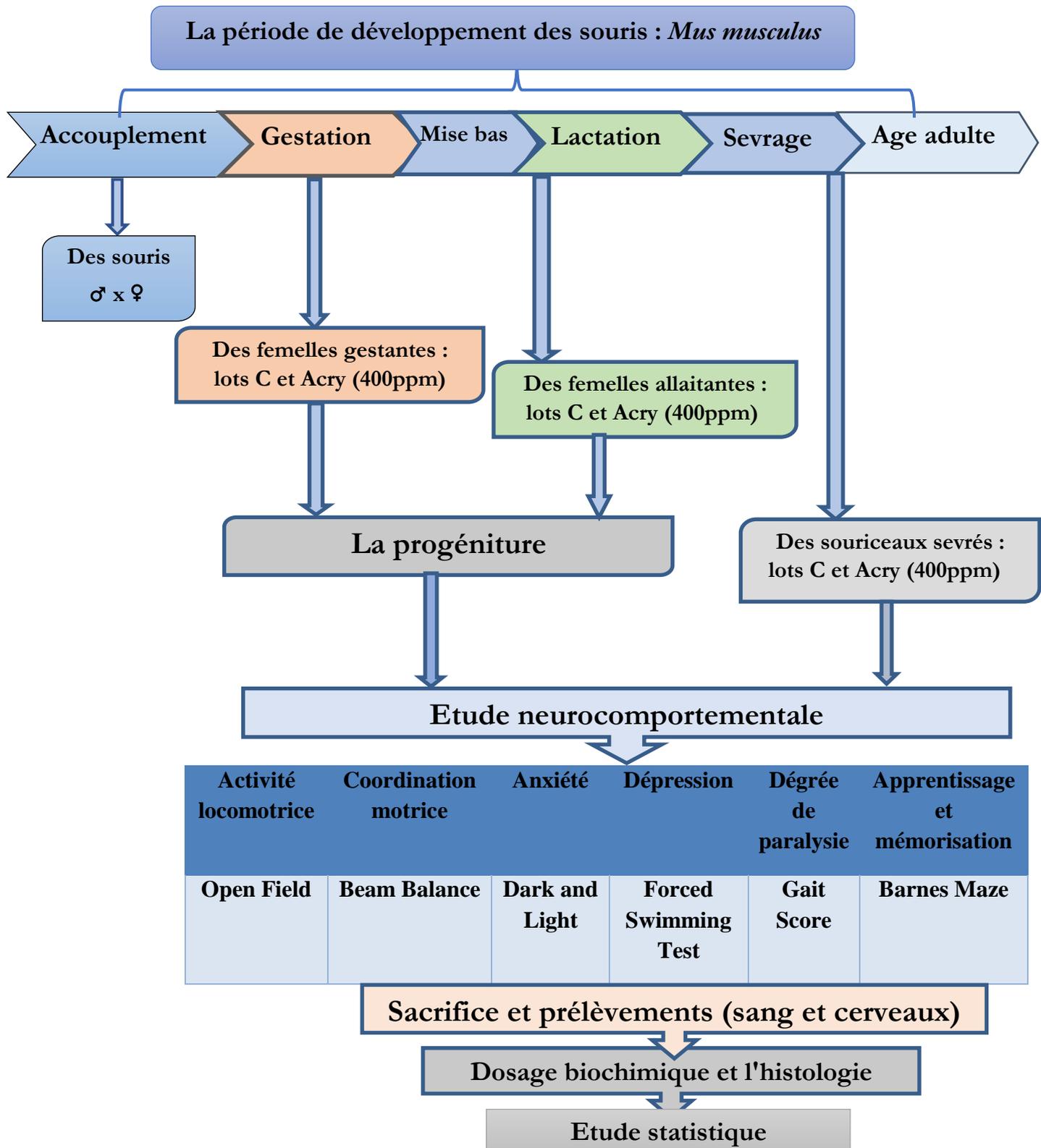


Figure 25 : Le protocole expérimentale effectué.

2. Le protocole expérimental :

Après la période d'adaptation, nous avons amorcé ce projet avec un design expérimental comme suit :

Partie 1 :

Cette première partie de notre expérimentation consiste à cerner des perturbations apparentées secondairement à une toxicité maternelle par l'Acry chez les descendants, elle renferme :

La phase d'accouplement : consiste à mettre (3 femelles et un mâle) par cage pendant une semaine, après les femelles gestantes sont divisées en des lots : contrôle et intoxiqué.

La phase d'intoxication et la répartition des lots :

- **Lot C (contrôle) :** renferme des femelles gestantes qui reçoivent de l'eau du robinet sans aucun traitement.
- **Lot Acry (intoxiqué) :** constitué par des femelles gestantes qui reçoivent de l'Acry en dose de (400ppm) (Miau-Hwa Ko et al., 1999) dissout dans l'eau du robinet, la chronologie d'intoxication nous permet de répartir ce lot en des sous-groupes :
 - Le sous-groupe (Acry a) : la période d'intoxication (à raison de 400ppm) des femelles gestantes a été étalé pour balayer la phase de gestation jusqu'au mise bas.
 - Le sous-groupe (Acry b) : la période d'intoxication (à raison de 400ppm) des femelles allaitantes a été étalé pour balayer la phase de lactation jusqu'au sevrage.

Partie 2 :

La suite de nos expériences se révèle sur la mesure de tout affections peut influencer la période de croissance et qui a été menu sur des souriceaux juvéniles (sevrés ; c'est-à-

dire âgés de 22 jours) issus du premier accouplement, où la répartition des groupes a été comme ceci :

- ❖ **Lot C (control)** (n=8) : recevant de l'eau du robinet sans aucun traitement.
- ❖ **Lot Acry (intoxiqué)** (n=8) : ce groupe reçoivent oralement la même dose d'Acry (400ppm) (**Miau-Hwa Ko et al., 1999**) dissout dans l'eau du robinet pendant une durée d'exposition =24 jours.

3. L'évolution pondérale :

Le poids corporel de chaque souriceau a été noté quotidiennement durant toute la durée de l'exposition ainsi que le taux de mortalité a été enregistré au sein des lots.

4. L'étude neurocomportementale :

Durant la période d'exposition plusieurs paramètres neurocomportementales a été évalué y compris : l'activité locomotrice, le paralyse des membres postérieurs, la coordination motrice, le niveau d'anxiété et de dépression, les capacités d'apprentissage et de mémorisation à travers des divers dispositifs (Open Field, Gait Score, Beam Balance, Dark and Light, Forced Swimming Test, Barnes Maze) respectivement , les cages d'hébergements des souris ont été placées une demi-heure préalablement au test dans la salle d'expérimentation permettant par la suite l'adaptation de ces rongeurs à cet nouvel environnement, de plus tous les dispositifs ont été nettoyés après chaque passage de l'animal à tester par une solution d'éthanol de façon à masquer tout indice olfactif perturbateur, ce qui consiste le test de Barnes aussi un bruit blanc a été mise en place pour éliminer tout parasites.

L'ensemble des tests ont été filmées et enregistrées permettant ultérieurement l'analyse des différentes variables comportementales.

4.1 Open Field Test :

Le test de l'Open Field (OF), initialement a été décrit et développé par **Hall (1934,1938)** il est régulièrement employé dans de nombreuses études comme un test mesurant l'activité locomotrice et exploratoire et comme un révélateur de la réactivité émotionnelle chez les rongeurs, on considère que ces derniers préfèrent les espaces confinés, clos et peu éclairés et ils ont une tendance à éviter cet environnement stressant.

Ce dispositif est une enceinte ouverte rectangulaire en bois (L x l x H = 90x70x60) fortement éclairée avec un fond sombre éparpillé par des lignes délimitant des carreaux (10 x 10 cm) (Figure 26) où la souris était initialement placée dans l'un des quatre coins de l'open-field, la tête orientée vers le coin (Kahloula, 2017).

Son comportement était observé pendant 5 minutes et les paramètres à mesurer sont :

L'activité locomotrice :	La réactivité émotionnelle et exploratoire :
L'activité locomotrice horizontale = le nombre total de carreaux traversés pendant la durée du test.	Le temps de latence ; le moment mis par ce rongeur pour sortir des quatre carreaux formant le coin.
L'activité locomotrice verticale = le nombre total de redressements.	Le nombre total de visites au centre.
	Le nombre total de toilettages.
	Le nombre total de défécations.

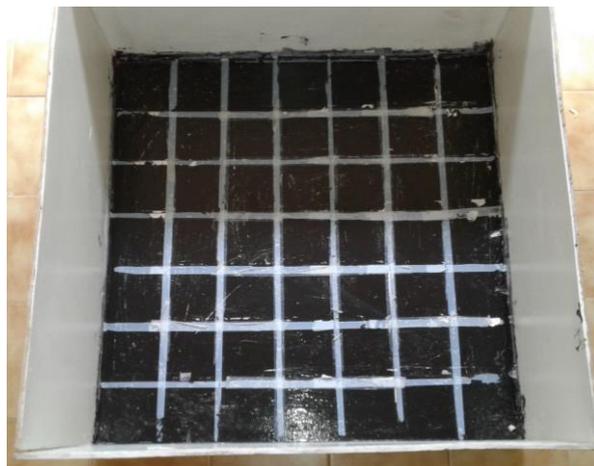


Figure 26: Le dispositif de l'Open Field.

4.2 Dark and Light :

Selon (Crawley et Goodwin, 1980 ; Belzung et coll, 1989) ce test est couramment utilisé dans les études comportementales où il s'appuie sur les propriétés aversives du rongeur vis à vis la lumière afin d'évaluer son état d'anxiété.

Ce dispositif est constitué d'une boîte à double compartiments qui sont égaux (L = 22 cm ; l = 16 cm ; H = 23 cm) séparés par une petite ouverture de 6 cm de haut et de 5 cm de large, l'un des deux est noir l'autre est blanc fortement éclairée (figure 27).

Chaque sujet a été déposé dans le coin de la paroi opposée à l'orifice centrale au niveau du compartiment sombre et il est autorisé à explorer ce nouvel environnement pendant 3 minutes.

Les paramètres mesurés après les trois minutes d'exploration sont le temps de séjour dans les deux compartiments durant 5 minutes d'expérimentation permettant par la suite de comparer entre les activités exploratrices de ces animaux dans les deux chambres en déterminant leurs degrés d'anxiété (Kahloula, 2017).



Figure 27: Le test Dark and Light (les souris à tester)

4.3 Forced Swimming Test :

Ce test permet d'évaluer l'état de résignation qui est un comportement dépressif chez le rongeur, il se traduit par une immobilité importante selon son premier fondateur (Porsolt, 1977).

Le dispositif expérimental est un cylindre en plexiglas transparent de 20,7 cm de diamètre et de 39 cm de hauteur remplie en 3/4 d'eau à une température de $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ (Figure 28) dans lequel les souris sont soumises successivement à cette épreuve de nage forcée pendant 3 minutes, les paramètres à mesurer sont :

- Le temps de mobilité où l'animale nage activement avec ses quatre pattes.
- Le temps d'immobilité durant laquelle l'animal flotte seulement (des mouvements à faible amplitude) ce qui reflète un désespoir comportemental (Kahloula, 2017).



Figure 28: Le dispositif du test la nage forcée.

4.4 Gait score :

Pour évaluer la progression de l'atteinte des membres postérieurs au fil du temps l'analyse à l'œil nu du comportement locomoteur des rongeurs en champ ouvert selon **Lopachin et al., 2001** et **Noble et al., 2005 ; Ogawa et al., 2012 ; Prasad et Muralidhara, 2013** se révèle approximatif.

Les observations visuelles de la motricité (des membres postérieurs) ont été converties en données numériques pour chaque souris posée séparément sur une surface plane vide ou dans une boîte en plexiglas transparente (Figure 29) et observée pendant 3 minutes, les scores à noter sont :

Score 1 : Le rongeur reste actif (n'était pas affecté).

Score 2 : Une atteinte légère caractérisée par une faiblesse, une ataxie légère et un évasement du panard.

Score 3 : Une affection modérée se qualifie par la réduction de la locomotion et l'évasement des pattes postérieurs.

Score 4 : Une locomotion réduite, un évasement des membres pendant l'ambulation, l'incapacité à supporter le poids corporel avec l'absence totale de redressement.

Ce test est répété chaque 3 jours durant toute la période d'intoxication pour apprécier ces symptômes au cours du temps.



Figure 29: Gait score.

4.5 Beam Balance Test:

Les déficits de la coordination motrice selon (**Carter et al., 2001**) et (**Southwell et al., 2009**) peuvent être évaluée par le test de la poutre d'équilibre, les paramètres à mesurer sont la vitesse à laquelle le faisceau est traversée et le nombre de chutes (**Luong et al., 2011**).

Ce test est un dispositif à faisceau en bois qui se compose des poutres planes rectangulaires de 125 cm de longueur et de 6mm, 12 mm ou 24 mm de largeur, surélevées à 50 cm sur deux pôles avec des bases arrondis qui maintient l'équilibre de la poutre, au-dessous de laquelle un hamac est tendu afin d'amortir les chutes.

La cage à domicile a été placée dans l'un des extrémités de la poutre comme un point d'arrivée pour motiver les animaux à tester, ils sont acclimatés préalablement à ce dispositif au moins deux jours d'entraînement permettant à ces rongeurs de se familiariser (au minimum 3 essais par jour avec un intervalle de 15 minutes entre deux essais successives).

Le probe test consiste à placer les souris dans l'extrémité de départ de la poutre auquel le temps nécessaire pour échapper à la cage a été mesuré par un chronomètre (figure 30), généralement ces animaux traversent la poutre avec une quantité minime d'arrêts ou décrochages, cependant, quand ils accrochent, reniflent ou regardent de côté en se reculant, on doit le pousser pour avancer et traverser ce faisceau, vers la fin du test ils restent un certain moment avant de se réfugier.



Figure 30: Le probe test de la poutre d'équilibre (24mm).

4.6 Barnes Maze :

Le test de Barnes a été utilisé pour évaluer l'apprentissage spatial et la mémoire, dans ce test, nous avons utilisé une plate-forme circulaire en bois (100 cm de diamètre) surélevée à 65 cm du sol à l'aide d'un siège rotatif, contenant 12 trous uniformes (4 cm de diamètre) situés à 9 cm dans sa périphérie, près de ce dispositif des repères visuels ont été placés dans la pièce d'expérimentation (figure 31).

Tous les 11 trous ont été laissés sans recouvrement, à l'exception d'un seul qui dit le trou cible relié à la cage d'élevage (représente une niche familiarisée) ou animal mené à retrouver l'emplacement de ce refuge dont sa position reste rigoureusement la même pour chaque souris durant toute la période d'expérimentation, on outre que cette plate-forme doit essuyée par l'alcool à 70% de manière à éviter le risque d'un guidage par traces olfactives (Attar et al., 2013; Kahloula, 2017 ; Sadeghian et al., 2018).

Ce test renferme deux phases :

- ❖ La phase d'apprentissage ou d'acquisition :il s'agit d'une phase d'entraînement, elle dure cinq jours sur la base de 3 essais quotidiens (en tenant compte que l'intervalle entre deux essais consécutifs du même jour est environ 15 min)

Pour chaque essai les animaux ont été placés individuellement dans un cylindre opaque au centre de la plate-forme permettant une habituation à la situation expérimentale (figure 32A), puis celui-ci est retiré après 10 secondes et l'animal explore librement ce dispositif pendant 3 min, pour laquelle soit la souris se réfugie, soit elle est guidée délicatement vers le trou cible si le temps nécessaire pour l'essai est achevé où elle s'abrite 1 minute.

- ❖ La phase de mémorisation : consiste à évaluer la rétention du labyrinthe par un seul essai exploratoire pendant 2 minutes sans cage de fuite et par un recouvrement des 12 trous dans le sixième jour et après au douzième jour (test à long terme) (figure 32B).

Les paramètres comportementaux à mesurer sont :

- ✓ La latence : le temps passé par le rongeur depuis sa libération du cylindre opaque jusqu'à sa première exploration des trous.
- ✓ Le nombre d'erreurs considéré comme le nombre de visites aux trous hormis le trou cible.
- ✓ La stratégie d'exploration est définie comme ceci :
 - a) Direct (se déplaçant soit directement vers le trou cible, soit vers un trou adjacent avant de retrouver la cible).
 - b) Serial (exploration d'au moins deux trous non cibles avant se réfugier).
 - c) Random (exploration non ordonnée et aléatoire dans le labyrinthe).
- ✓ Pour la phase de mémorisation, les paramètres à mesurer sont la latence et le temps passé dans les quatre quadrants (figure 32C).



Figure 31: Le labyrinthe de Barnes.

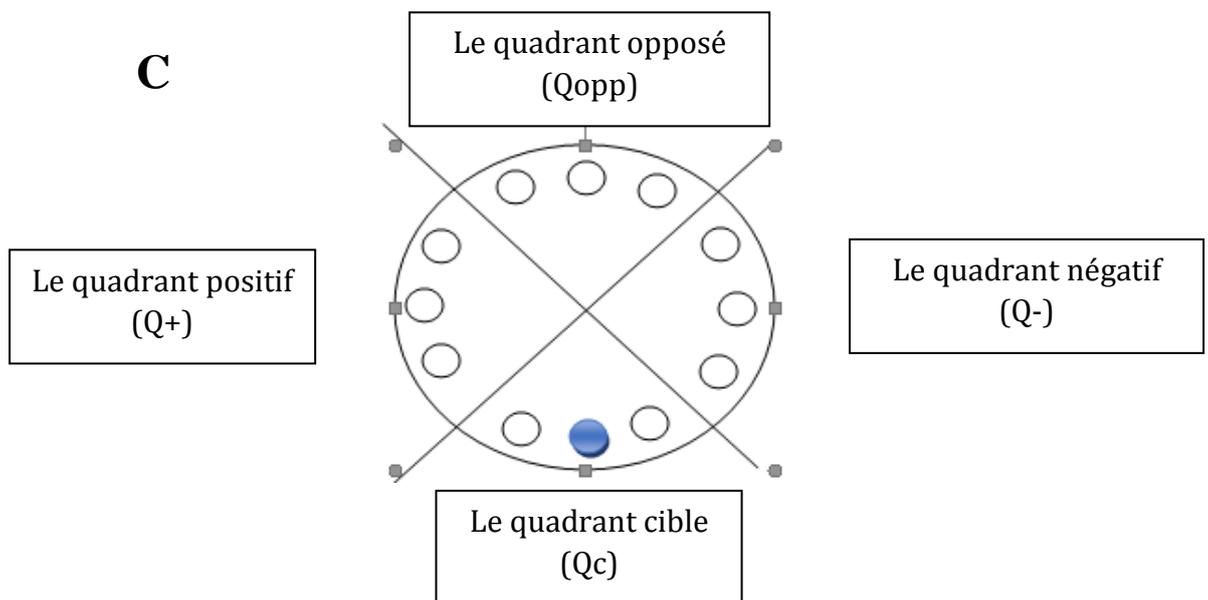


Figure 32: Le test de la mémoire spatiale : Barnes Maze.

5. Le sacrifice et le prélèvement des organes :

A la fin des différents tests neurocomportementales, les souris ont été sacrifiées sous anesthésie au chloroforme après 12 h de jeun, le sang a été récupéré dans des tubes à hémolyse hépariné, centrifugés pendant 15 minutes à 3000 tours/min puis conservés à 4°C pour le dosage biochimique, les cerveaux de souris (control et intoxiqué) ont été soigneusement prélevés, rincés par l'eau physiologique (Na Cl 0.9%) (figure 33) pesés et conservés dans le Formol (10%), afin de réaliser une étude histologique.

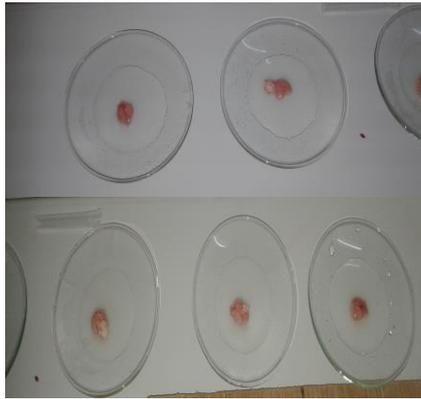


Figure 33: Les prélèvement des cerveaux.

6. Les analyses biologiques :

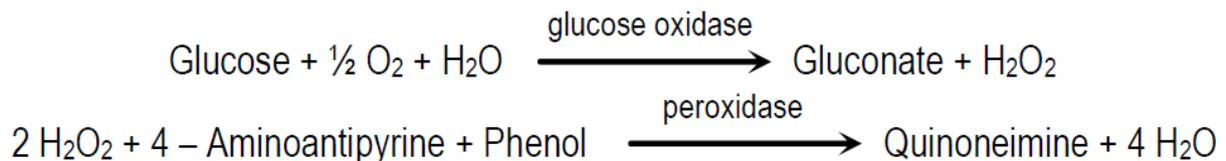
Quelques paramètres de la biochimie sanguine ont été exploités dans notre étude pour une exploration de tout anomalie lipidique, hépatique, rénale ou affectant même la glycémie.

Les prélèvements ont été conservés dans une zone à température contrôlée puis ils ont été mélangés aux réactifs spécifiques à la réaction (en respectant les volumes) ensuite les incubant (dans le plus souvent à 37°C) pendant un temps précis pour que la réaction biochimique ou enzymatique s'effectue, et vers la fin on va déterminer les concentrations par la mesure du signal optique des méthodes spectrophotométriques (à une longueur d'onde bien déterminée).

6.1 Dosage du glucose :

• **Le principe :**

Le glucose présent dans les échantillons plasmatiques génère un complexe coloré quantifiable par spectrophotomètre, selon une détermination enzymatique couplées (la méthode de GOD-PAP) décrites ci-dessous :



• **Le mode opératoire :**

Dans un portoir, on prend trois tubes : le blanc, le standard et l'échantillon et on les remplit de 1000µl de réactif de Glucose (un mélange de lyophilisat enzymatique: glucose oxydase et peroxydase + une solution tampon Tris pH=7); dans le deuxième tube on ajoute 10µl d'étalon standard (glucose 1g/l); et pour le troisième tube on ajout 10µl du plasma de l'échantillon à doser , après une incubation de 10 minutes à 37°C /30 minutes à 20-25°C et une agitation, la lecture des résultats se fait par le spectrophotomètre, avec le blanc dont la longueur d'onde est de 505 nm:

$$\text{Glucose} = (\text{DO échantillon} / \text{DO standard}) \times n$$

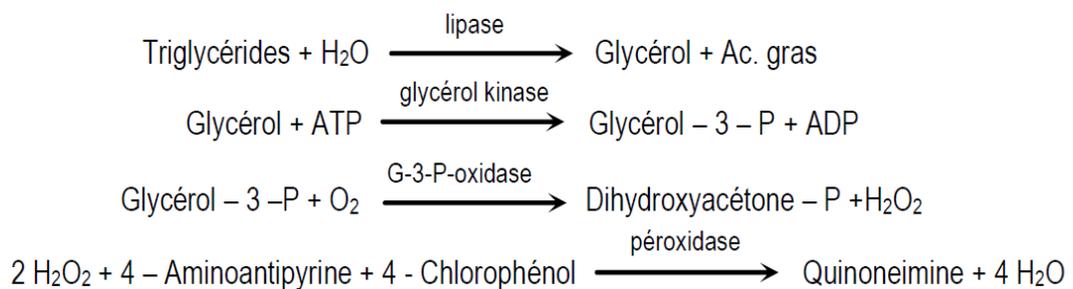
Sachant que : (n= concentration de l'étalon glucose)

6.2 Dosage des lipides :

6.2.1 Dosage des Triglycérides :

- **Le principe :**

Le dosage enzymatique des triglycérides par la méthode colorimétrique quantifiable par spectrophotométrie s'effectue selon les réactions suivantes :



- **Le mode opératoire :**

On mélange le réactif 1 et le réactif 2 (Réactif 1 : Tampon pH = 7.2 de Chloro-4-phénol + Réactif 2 : Lipoprotéine lipase + Glycéro-kinase + Glycérol-3-phosphate oxydase + Peroxydase + Amino 4 antipyrine + ATP) pour obtenir la solution de travail.

On pipette dans les 3 tubes les solutions suivantes (**tableau 4**) :

Tableau 4: Le mode opératoire effectué pour le dosage des triglycérides.

Les réactifs :	Tube 1 (Blanc)	Tube 2 (Etalon)	Tube 3
Echantillon			10µl
Standard		10µl	
La solution de travail	1000µl	1000µl	1000µl

Après une homogénéisation de chaque solution et une incubation à 37°C pendant 5 minutes, les concentrations dans chaque tube seront connues par le spectromètre à 505 nm, on calcule :

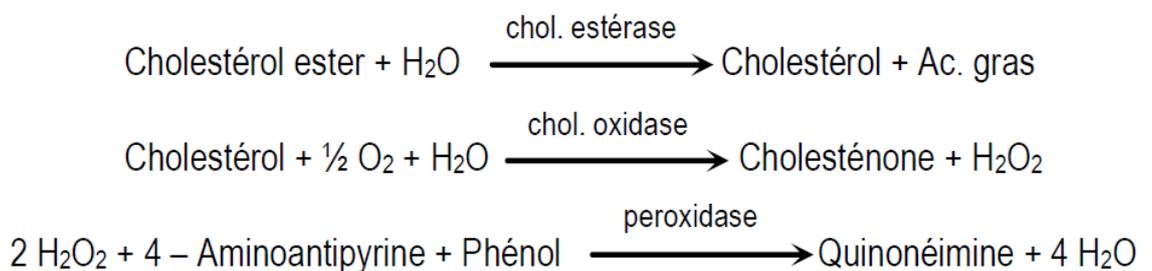
$$\text{Triglycerides} = (\text{DO échantillon}/\text{DO standard}) \times n$$

Sachant que : (n = concentration de l'étalon glycérol en trioléine)

6.2.2 Dosage du cholestérol total :

- **Le principe :**

Le dosage du cholestérol total se fait par une méthode enzymatique colorimétrique dont sa fraction libre et celle estérifiée donnent par l'action catalytique un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie : la quinonéimine, cette détermination du cholestérol se fait selon les réactions suivantes :



- **Le mode opératoire :**

On pipette dans des tubes après la préparation du réactif de travail (le mélange de réactifs : Cholestérol estérase + Cholestérol oxydase + Peroxydase + 4-aminoantipyrine dans une solution tampon de phosphate pH= 6.9 + Phénol + Cholate de sodium) les solutions suivantes (**tableau 5**):

Tableau 5: Le mode opératoire effectué pour le dosage du cholestérol total.

Les réactifs :	Tube 1 (Blanc)	Tube 2 (Etalon)	Tube 3
Standard (cholestérol)		10µl	
Echantillon			10µl
Le réactif de travail	1000µl	1000µl	1000µl

Une agitation qui sert à homogénéiser chaque solution, mais après 5 minutes d'incubation à 37°C la lecture par spectromètre se fait à 500 nm, et on calcule :

$$\text{Cholestérol} = (\text{DO échantillon} / \text{DO étalon}) \times n$$

(n = concentration de l'étalon cholestérol)

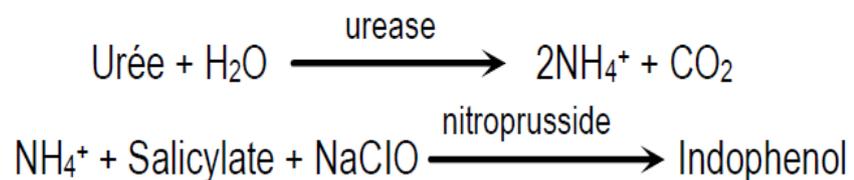
6.3 L'évaluation de la fonction rénale :

6.3.1 Dosage de l'urée :

La mesure du taux plasmatique d'urée (produit de la dégradation des protéines par le foie, filtré par les reins et éliminé dans les urines) permet de contrôler le fonctionnement rénal (**Borel et al., 1984**).

- **Le principe :**

L'urée est dosée cinétiquement par une réaction enzymatique colorimétrique (selon la méthode modifiée de Berthelot) :



Les ions ammonium en présence de salicylates et d'hypochlorite de sodium réagissent en formant un composé de couleur verte (Dicarboxylindophenol) dont l'intensité est proportionnelle à la concentration d'urée.

- **Le mode opératoire :**

On prépare les tubes comme le suit :

Tube 1 : le blanc, contient 1000µl de réactif d'urée (Réactif A) (la dissolution de : l'EDTA+ Salicylates de sodium+ Nitroprussiate de sodium+ Uréase+ Phosphate pH=6.7 dans le tampon).

Tube 2 : le standard, contient 10µl d'étalon d'urée + 1000µl de Réactif A.

Tube 3 : l'échantillon, contient 10µl du plasma à analyser + 1000µl de Réactif A.

Après l'incubation de 5 min à 37°C, on ajoute 1000µl de Réactif B (solution d'hypochlorite de sodium dissout dans l'eau distillé) dans les trois tubes ; la deuxième incubation de 5 min à 37°C, nous permet de procéder à la lecture par le spectrophotomètre à 590 nm ; ensuite en calcule :

$$\text{Urée} = (\text{DO Echantillon} / \text{DO Etalon}) \times n$$

Où (n= concentration de l'étalon Urée)

6.3.2 Dosage de la créatinine :

La créatinine (produit azoté de la dégradation de la créatine au niveau musculaires et il est directement filtré par les glomérules rénaux et excrété dans les urines). Son dosage dans les liquides biologiques en particulier le sang et l'urine est indispensable à l'évaluation de la fonction rénale (**Charrel, 1991**).

- **Le principe :**

Son dosage s'effectue selon une méthode cinétique enzymatique sans déprotéinisation où la créatinine forme un complexe coloré avec de la picrate en milieu alcalin, la vitesse de cette formation est proportionnelle à sa concentration :



- **Le mode opératoire :**

On dépose dans les tubes après une préparation du réactif R (un mélange à parts égales d'Hydroxyde de Sodium et l'acide picrique) les solutions comme ceci (**tableau 6**):

Tableau 6: Le mode opératoire effectué pour le dosage de la créatinine.

Les réactifs :	Tube 1	Tube 2
Standard (créatinine)	100µl	
Echantillon		100µl
Le réactif R	1000µl	1000µl

On mélange puis on lit les densités optiques DO_1 après 30 secondes ensuite la DO_2 une minute plus tard à l'aide d'un spectromètre ($\lambda=492$ nm), on calcule :

$\Delta DO = DO_2 - DO_1$ (pour le standard et l'échantillon) et donc :

$$\text{Créatinine} = (\Delta DO \text{ Echantillon} / \Delta DO \text{ Standard}) \times n$$

(n = concentration de l'étalon Créatinine)

7. L'étude histologique :

Notre étude histologique a été réalisée au sein de laboratoire d'anatomo-pathologie du CHU (Centre Hospitalo-Universitaire : HASSANI Abdelkader) à Sidi Bel Abbès au niveau de service de pathologie sous la direction de Pr.TOU Abdenacer.

Cette technique nous permet d'obtenir des coupes cérébrales fines en facilitant la détection de toutes les lésions touchant le cerveau et le cervelet, elle comprend plusieurs étapes : la fixation, l'inclusion, la coloration, le montage suivi d'un examen au microscope optique.

7.1 La fixation :

Elle a pour but d'immobiliser les constituants cellulaires dans un état voisin à l'état in vivo, elle se fait directement après le prélèvement pour empêcher tout putréfaction, autolyse, parallèlement elle entraîne un durcissement de l'organe (pour maintenir en place toute formations tissulaires), une protection contre les distorsions et les rétractions, et une préservation de la morphologie cellulaire et tissulaire en augmentant la consistance du tissu pour faciliter la coupe et de potentialiser la coloration en améliorant la captation des substances colorantes.

Elle s'effectue directement après le sacrifice en immergeant totalement les prélèvements dans le formol à 10% au moins 24 h à une température ambiante et peut durer plusieurs jours même plusieurs semaines.

7.2 L'observation macroscopique des organes fixés :

Les cerveaux fixés ont été par la suite mesurés (détermination des dimensions, la morphologie et la couleur) (Figure 34A) et découpés transversalement par un bistouri (en décrivant leur aspect macroscopique) (Figure 34B) puis placés dans des histocassettes marquées préalablement (Figure 34C) avant d'être mises dans un panier de l'appareil automate de circulation et subir un processus de déshydratation (Figure 34D).

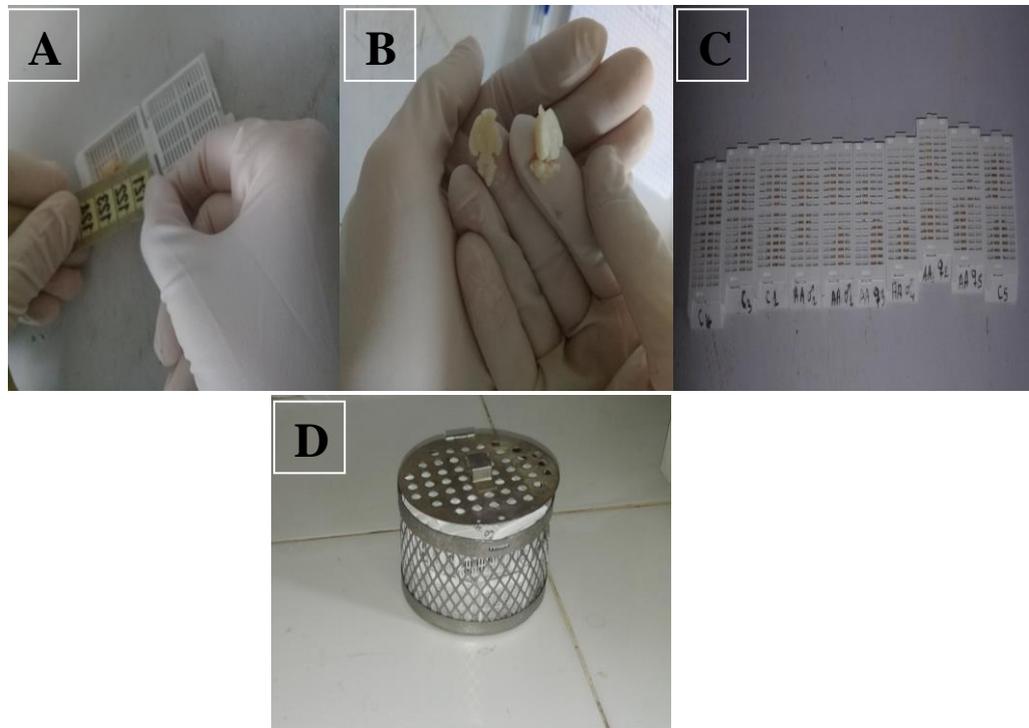


Figure 34 : Les étapes effectuées dans la salle de la macroscopie.

7.3 La réalisation des blocs de paraffine :

Il s'agit d'un passage obligatoire des tissus du formol à la paraffine pour obtenir des blocs, puis des rubans, étalés enfin sur des lames en verre.

- Première étape : l'imprégnation

L'inclusion des échantillons en paraffine exige qu'en extraire l'eau préalablement (une déshydratation) en suivant les étapes effectuées par un automate d'imprégnation en paraffine (TP1020/Leica) (Figure 35), pendant un cycle de 16h, où

les prélèvements sont initialement plongés dans un bain de formol ensuite dans des bains successifs d'éthanol dont leurs concentrations sont croissantes puis rincés dans un bain de solvant organique; le xylène permettant une clarification (éliminer tout traces d'alcool), ils peuvent ensuite être immergés dans un bain de paraffine liquide qui va imprégner profondément ces fragments tissulaires.

Toutes ces réactions ont lieu dans des 12 bacs d'automate (en respectant les durées), comme le suit (**tableau 7**) :

Tableau 7: Le processus effectué par l'automate de l'imprégnation.

Le bain d'automate contenant :	La durée d'imprégnation :
Formol	1h20min
Alcool 95%	1h30min
Alcool 95%	1h30min
Alcool 100%	2h
Acétone	1h30min
Acétone	1h30min
Xylène	1h
Xylène	1h
Xylène	1h
Paraffine	1h
Paraffine	1h30min
Paraffine	1h30min



Figure 35 : L'automate d'imprégnation.

- Deuxième étape : l'enrobage

Elle sert à inclure totalement les fragments tissulaires déshydratés issu de la première étape dans la paraffine pur (Figure 36A) placées au centre des moules (Figure 36B) et remplis au-dessous du robinet de paraffine liquide (à 58°C) (Figure 36C), puis le tout est ensuite disposé sur une plaque de refroidissement (-7°C) (Figure 36D), leurs solidifications permettent de démouler les blocs facilement qui acquièrent une consistance (Figure 36E) ils sont menés à la réalisation des sections histologiques minces au microtome(Figure 36F).

Cette technique permet aussi la conservation des échantillons en empêchant leurs fragmentations au fil du temps (conservation durant une période illimitée), et elle avait effectuée à une station d'enrobage (Tissue-Tek Dispensing Console) (Figure 37) comprenant trois parties : la plaque chaude (65°C), le robinet de paraffine liquide et la plaque froide (-7°C).

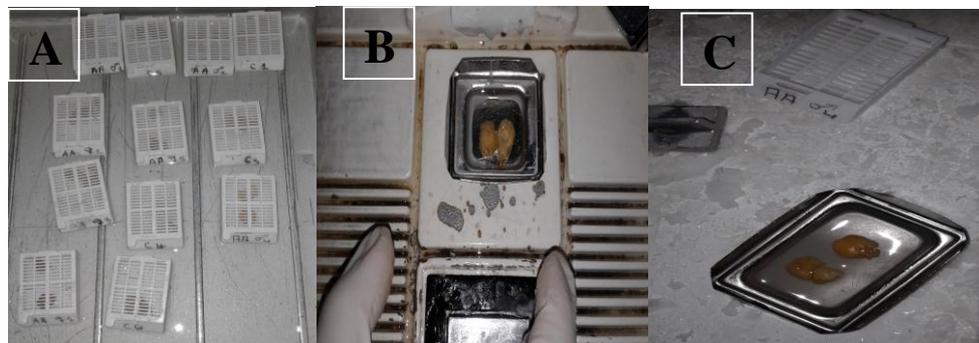




Figure 36 : Les différentes étapes d'enrobage.



Figure 37: La station d'enrobage utilisée.

7.4 La microtomie et confection des coupes :

Une fois les blocs de paraffine sont solidifiés, on fixe chaque bloc sur le porte – bloc devant la lame de microtome (Leica RM 2235) (Figure 38A) et on l'oriente convenablement pour réaliser des sections de 3 μ m d'épaisseur formant un ruban plissé (Figure 38B), ces rubans sont étalés par la suite à la surface d'un bain marie (Leica HI 1210) à 48°C (Figure 38C) (pourque la coupe acquière une certaine planéité) ainsi les sections d'intérêt sont pêchées sur des lames en verre (identifiées auparavant à l'aide d'un crayon diamanté) en permettant une meilleure adhésion des coupes sur leurs supports (Figure 38D), ensuite le séchage et le déparaffinage s'effectuent au niveau de l'étuve (Drying Oven TX-11) (56°C) (Figure 38E) en quelque minutes et vers la fin ces lames doit être placer dans un portoir puis immergées dans un bac de xylène (Figure 38F) pour entamer le processus de coloration d'intérêt.

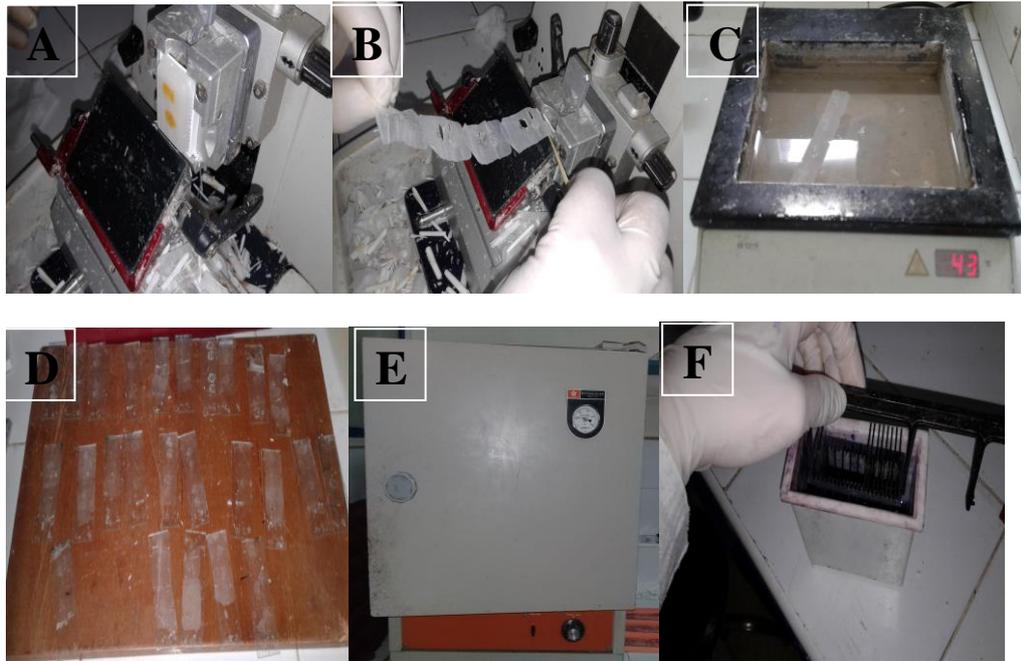


Figure 38 : La réalisation des coupes par le microtome.

7.5 La coloration des coupes :

La coloration des lames permet de mettre en évidence et de différencier les constituants cellulaires et tissulaires, en routine la coloration à l'Hémalun Eosine (Hématoxyline et Eosine) c'est la coloration la plus répandue en histologie, mais ce processus nécessite une étape préliminaire d'hydratation.

+ L'hydratation :

Les lames déparaffinées d'abord doivent être hydratées, elle se fait en les plongeant dans des bains successifs de xylène puis dans des bains d'alcool d'ordre décroissant, ensuite on rince avec l'eau.

+ La coloration :

La coloration offre une lisibilité des sections sous l'analyse microscopique, où la technique utilisée est celle de l'hématoxyline, éosine pour renforcer le contraste des composants cellulaires, l'hématoxyline colore les structures nucléaires (basophiles) en bleu ainsi l'éosine colore les structures cytoplasmiques (acidophiles) en rose à rouge, ce procédé se termine par une déshydratation à l'aide des bains d'alcool de titre croissant suivi par des bains de xylène avant de passer au montage.

Dans ce cas, les lames sont trempées successivement dans les bains d'automate (Leica st 4040) (figure 39) permettant l'hydratation, la coloration et la déshydratation en même temps :

Tableau 8: le processus effectué par l'automate de coloration.

Le bac d'automate contenant :	Le temps de contact :
Xylène	5 minutes
Alcool 100%	1 minute
Alcool 95%	1 minute
Alcool 75%	1 minute
Eau	1 minute
Héματοxyline	4 minutes
Eau	8 minutes
Acide chloridrique	1 minute
Carbonates de lithium	1 minute
Eau	1 minute
Alcool 95%	1 minute
Eosine	1 minute
Alcool 100%	1 minute
Alcool 100%	1 minute
Xylène	2 minutes

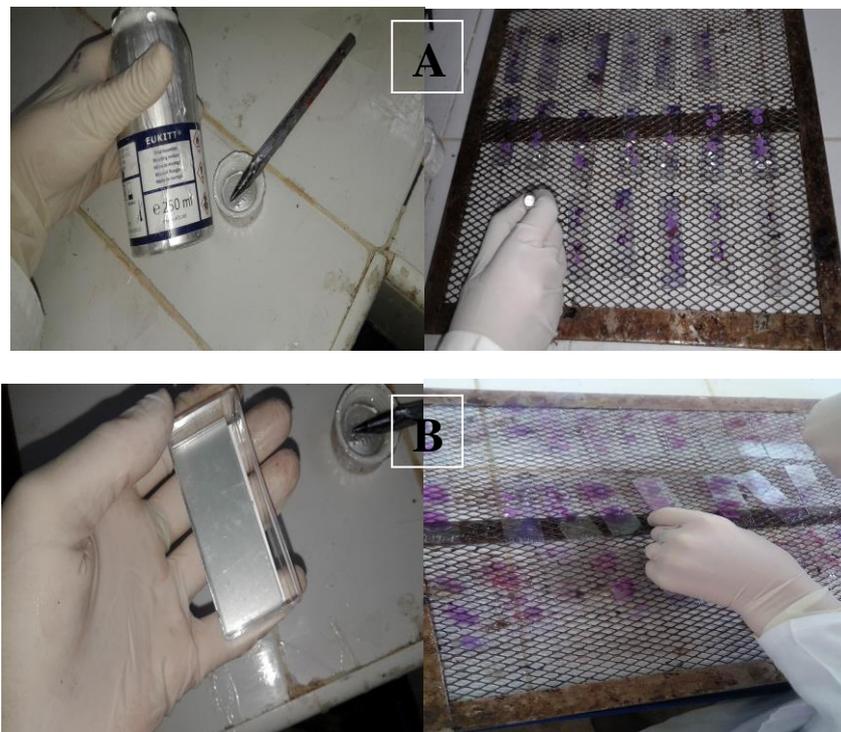


Figure 39 : L'automate de coloration utilisé.

7.6 Le montage des lames :

Les lames colorées doivent subir un montage où on dispose quelques gouttes d'Eukitt sur les coupes (figure 40A) et on les recouvre par des lamelles couvre-objet (figure 40B) de façon que la résine utilisée revête la totalité de la section (aucune bulle d'air ne doit s'insérer), on accélère la polymérisation de la colle biologique en plaçant les lames dans l'étuve (56°C) durant quelques minutes (figure 40C) puis un séchage à l'air libre est effectué.

Les lames ainsi préparées (figure 41) peuvent se conserver sans risque d'être altérer pendant une durée illimitée.



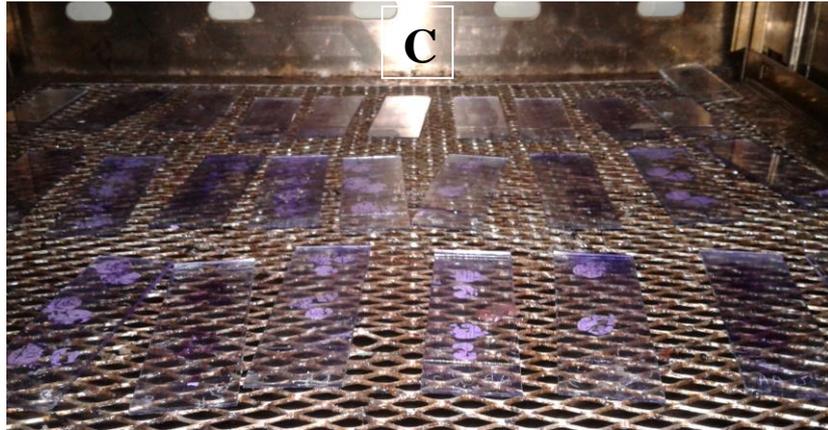


Figure 40 : Le montage des lames.

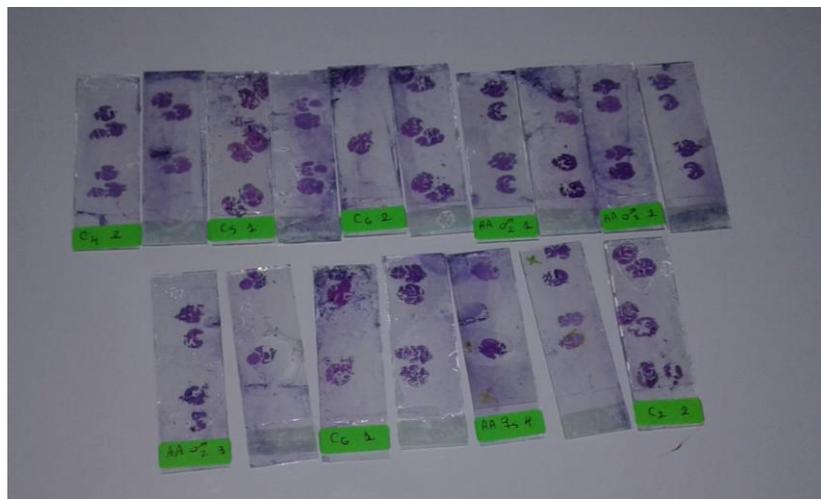


Figure 41: Les lames préparées pour l'analyse microscopique.

7.7 L'observation microscopique :

Finalement, les lames sont prêtes pour l'observation au microscope optique (Leica DM 1000) à plusieurs grossissements (x10 puis x40) (figure 42) et les photos ont été prises pour des fins comparatives.

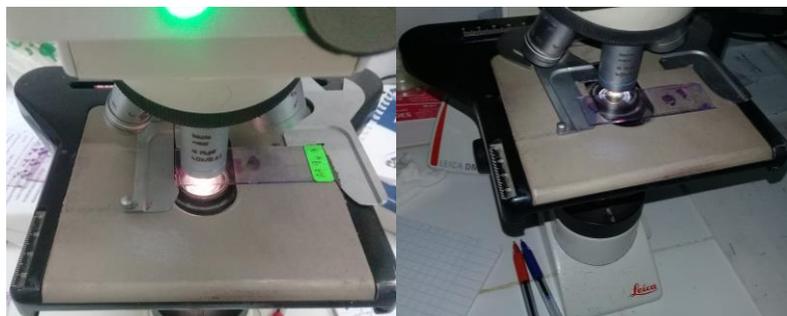


Figure 42: L'examen microscopique des sections histologiques.

8. L'étude statistique :

Les analyses statistiques ont été réalisées par le logiciel Sigma Stat (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), où les données expérimentales obtenues ont été exprimées en moyenne (M) simulée de l'erreur standard (\pm S.E.M).

La comparaison de deux moyennes est effectuée par un test t de Student, et celle des moyennes multiples était par une analyse de variance (ANOVA) avec le facteur intoxication (Acry, C). Les résultats étaient considérés comme statistiquement significatifs pour une probabilité de $p \leq 0,05$.

***Résultats et*
*interprétations***

Nos résultats obtenus vont être annoncé en deux parties, la première partie consiste à mettre au point de tout observations et de mortalité au sein des lots (intoxiqués par l'Acry) dès le stade in utéro et à des différents stades de développement prénatal et postnatal, cependant la deuxième partie vise à démontrer l'effet de ce xénobiotique sur la croissance et à différentes échelles.

1. Les observations macroscopiques :

Durant la période d'intoxication des femelles gestantes (Acry **a**), on a observée l'apparition des atteintes de motricité: évasement du panard (figure 43) et un déclin de redressement (figure 44) qui s'aggravent de façon progressive par rapport au femelles (de lot C) mais à la mise bas, la détermination du nombre de portées et le taux de mortalité/immortalité au sein des lots (Acry et C) montrent clairement une réduction de l'effectifs , de la taille et un taux de mortalité assez important de la progéniture des femelles intoxiquées comparées aux femelles C (figure 45). Pour les femelles allaitantes, l'intoxication par l'Acry avait retardé le développement de la progéniture en causant leurs mortalités (figure 46) (au bout d'une semaine les mêmes atteintes de motricité ont été observées chez les femelles Acry **b** (figures 43,44)).



Figure 43: Photographie représentant l'atteinte des pattes postérieures (Évasement du panard) chez les femelles Acry (Acry **a** et Acry **b**).

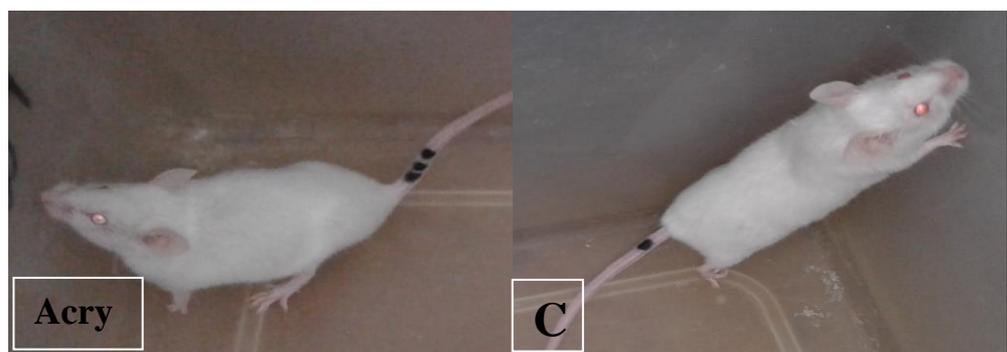


Figure 44 : Photographie représentant une réduction de redressement chez les femelles Acry comparativement aux femelles contrôles



Figure 45 : Photographie démontrant une réduction de l'effectif de la taille des progénitures chez les femelles Acry a par rapport aux femelles C.



Figure 46: Photographie démontrant un retard de développement et une mortalité de la progéniture issus des femelles Acry b comparativement aux celle des femelles C.

2. Les effets d'Acry sur l'évolution pondérale et le poids des cerveaux :

Les résultats de l'évolution pondérale montrent une diminution significative des poids corporels ($*P \leq 0.05$, $**P \leq 0.01$, $***P \leq 0.001$) des souriceaux intoxiqués comparativement aux souriceaux témoin (figure 47), en outre que les poids des cerveaux du lot Acry se révèlent significativement ($*P \leq 0.05$) inférieur par rapport à ceux des animaux contrôles (figure 48).

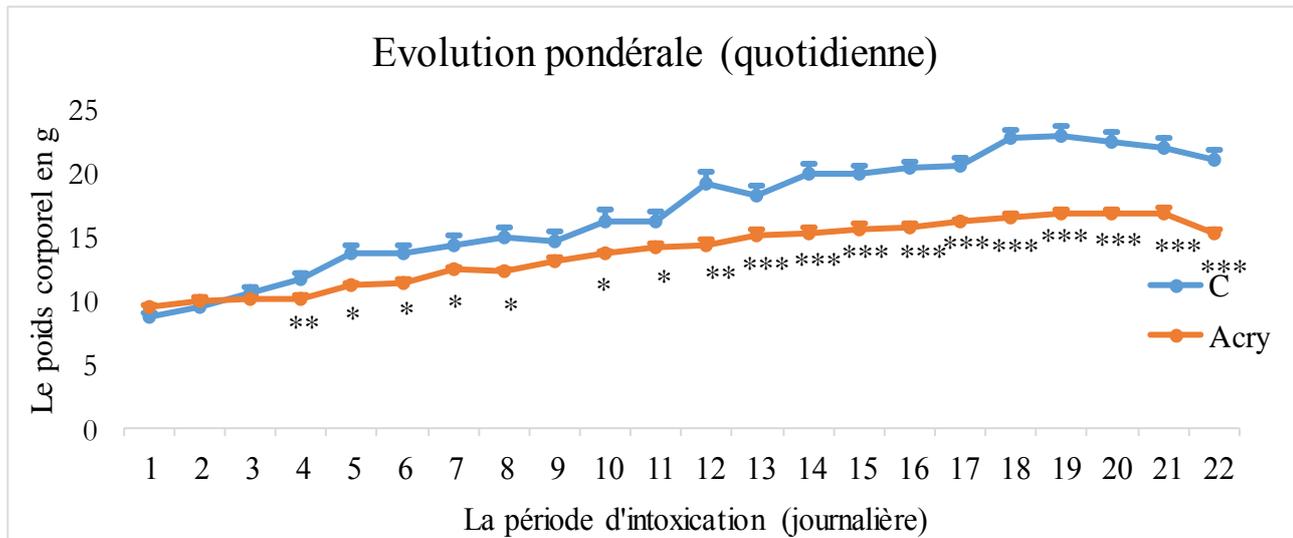


Figure 47 : L'évolution pondérale des souriceaux durant la période d'intoxication l'évolution. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (* $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$).

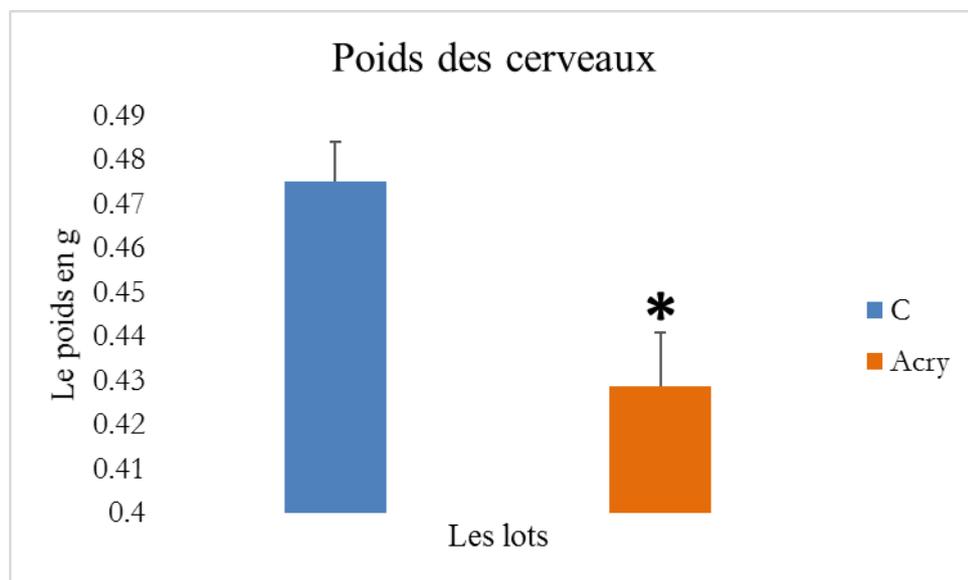


Figure 48: Comparaison entre les poids des cerveaux des deux lots (C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (* $P \leq 0.05$).

3. Les effets d'Acry à l'échelle neurocomportementale :

3.1 L'évaluation de l'activité locomotrice et exploratoire (Open Field) :

Les résultats de l'évaluation de la locomotion à travers le test de l'Open Field montrent une réduction significative existant entre le nombre de redressements (l'activité locomotrice verticale) des souriceaux intoxiqués comparés aux contrôles ($*P \leq 0.05$) parallèlement aucune signification statistique a été détecté entre ces deux lots C et Acry pour l'activité locomotrice horizontale qui est représentée par le nombre des carreaux traversés ceci affirme que l'Acry affecte les membres postérieurs en réduisant le taux de redressements et cela va être vérifié par les résultats des scores de l'ambulation.

La réactivité émotionnelle et exploratoire mesurée par ce test montre statiquement une latence importante et un nombre de visite aux centre faible des animaux intoxiqués comparés aux C ($*P \leq 0.05$), par contre le nombre total de toilettage et de défaction se révèlent non significatif par l'analyse ANOVA entre ces deux lots C et Acry (figure 49).

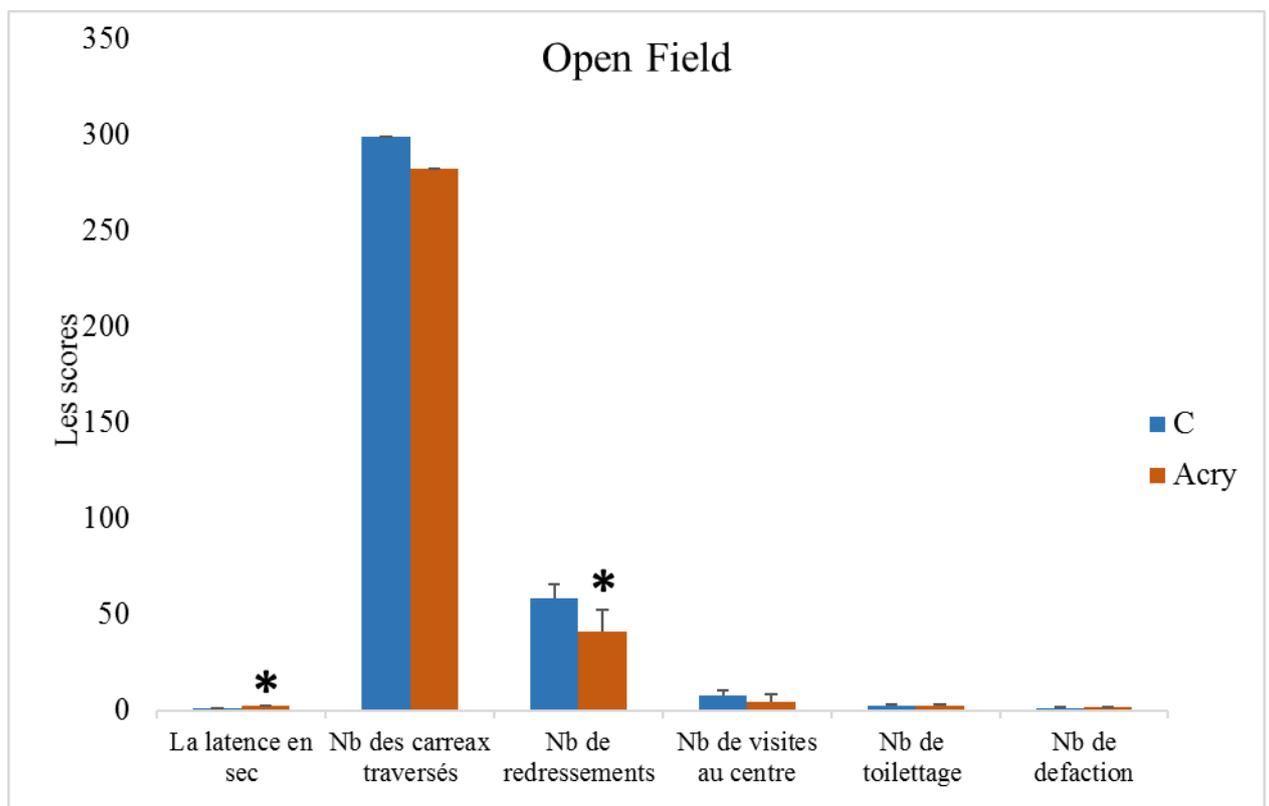


Figure 49: Comparaison de l'activité locomotrice, la réactivité émotionnelles et exploratoire entre les deux lots par le test de l'Open Field. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (* $P \leq 0.05$).

3.2 L'évaluation de l'état d'anxiété (Dark and Light) :

Les résultats du test Dark and Light indiquent nettement un abaissement significatif du temps de séjour dans le compartiment noir et une élévation du temps passé dans le compartiment clair (* $P \leq 0.05$) chez les souriceaux intoxiqués par rapport aux souriceaux contrôles (figure 50), ce déclin est un révélateur d'anxiété.

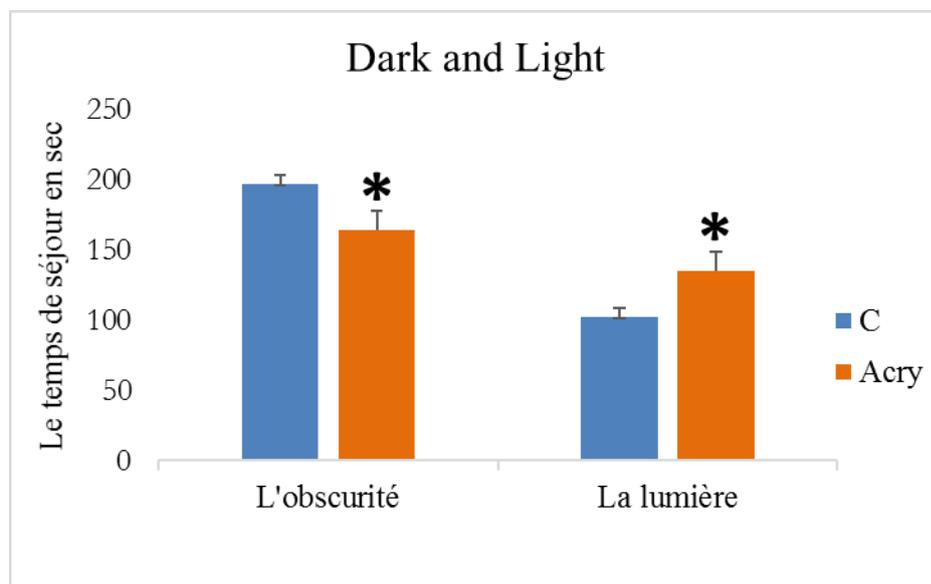


Figure 50: L'évaluation de l'état d'anxiété entre les deux lots (C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (* $P \leq 0.05$).

3.3 L'évaluation de l'état de dépression (Forced Swimming test) :

Les analyses statistiques ANOVA ne montrent aucune signification entre le temps de mobilité et d'immobilité pour les animaux du lots Acry et C, où le test de la nage forcé atteste aucune installation d'un comportement de résignation chez ces animaux (figure 51).

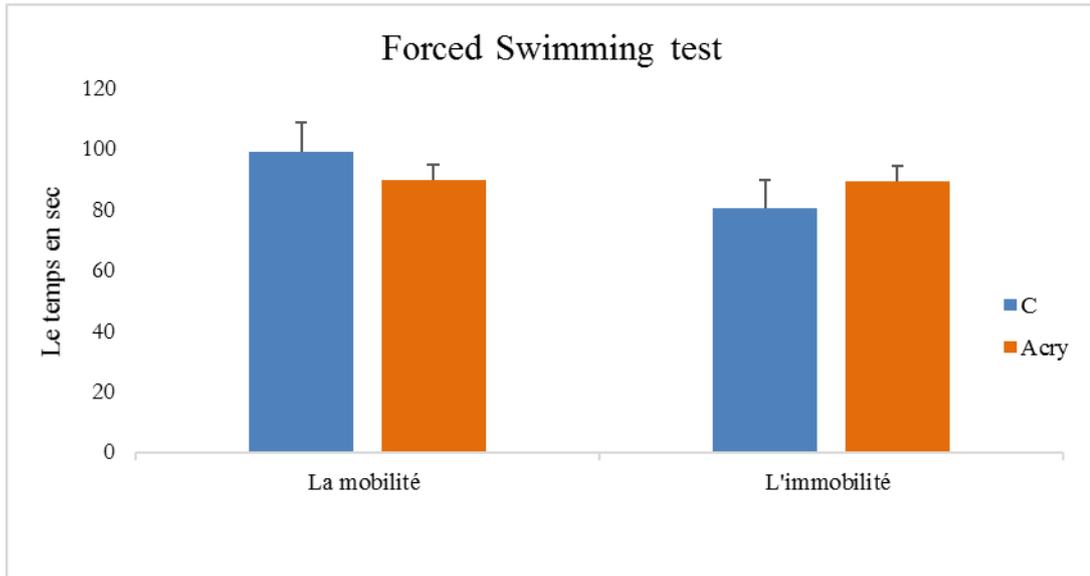


Figure 51: L'évaluation de l'état de dépression entre les deux lots (Cet Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (* $P \leq 0.05$).

3.4 L'évaluation du paralysie des membres postérieurs (Gait Score) :

Les analyses statistiques des scores numériques issus du test Gait Score prouvent progressivement une différence hautement significative (dès le 9^{ème} jour) entre les scores des souriceaux exposé à l'Acry par rapport aux contrôles (* $P \leq 0.001$) en montrant des atteintes des pattes postérieurs (comme l'évasement du panard) chez le lot Acry comparativement au lot C et qui s'aggravent au fil du temps (figure 52).

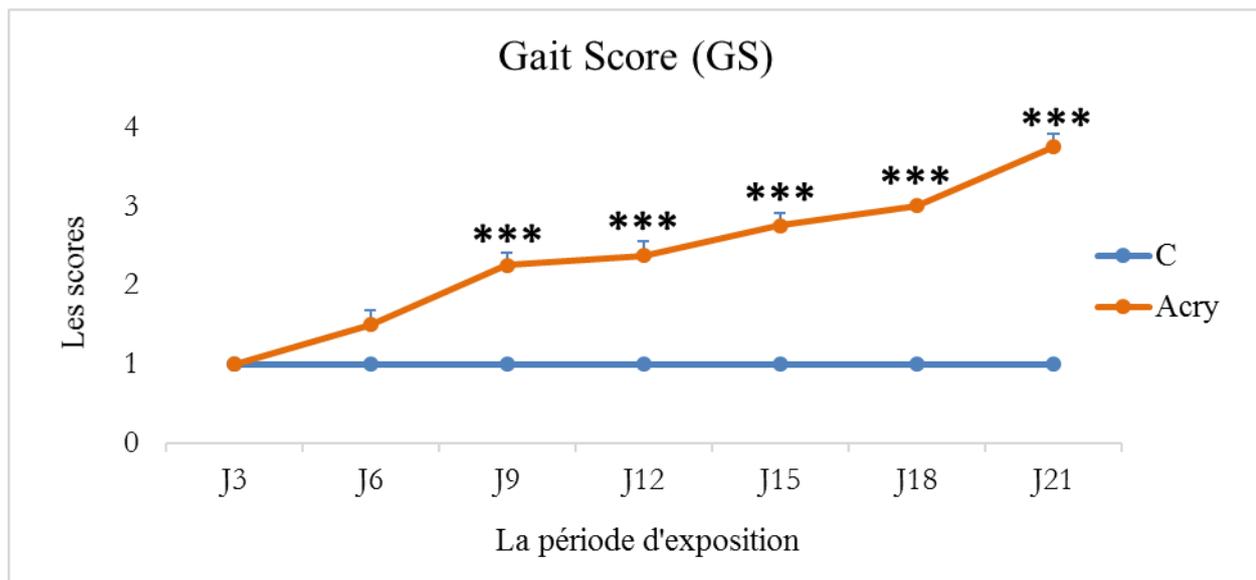
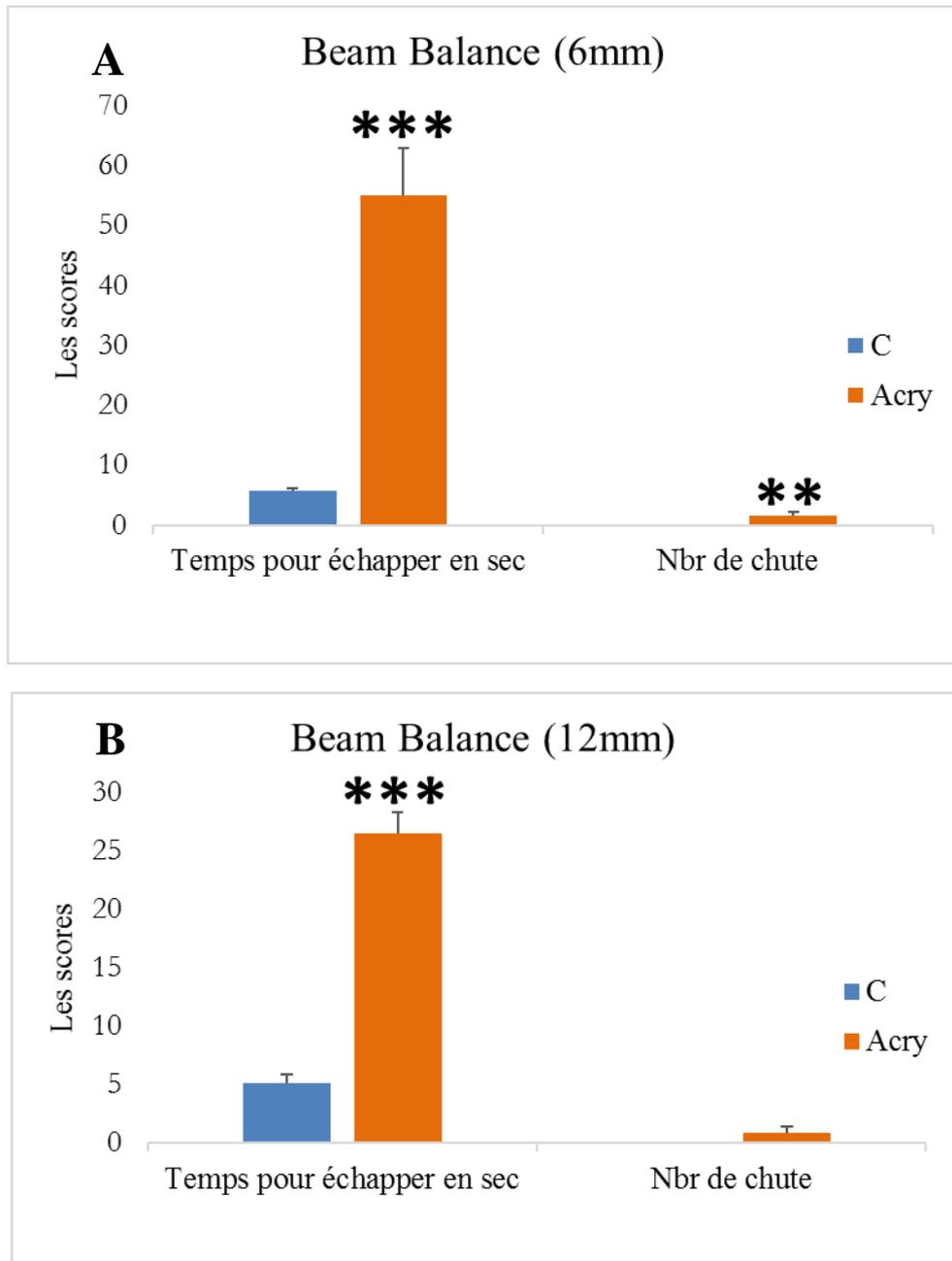


Figure 52 : Comparaison entre les scores d'ambulation des souriceaux (C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (***) $P \leq 0.001$).

3.5 L'évaluation de la coordination motrice (Beam Balance test) :

Les résultats révèlent un effet hautement significatif du temps nécessaire pour traverser le dispositif (à différentes largeurs : 6mm, 12mm, 24mm) et un nombre de chutes considérables chez les souris intoxiquées relativement aux C (** $P \leq 0.001$, ** $P \leq 0.01$ respectivement), ces résultats dévoilent distinctement que l'Acry affecte la coordination motrice et engendre une ataxie (figure 53).



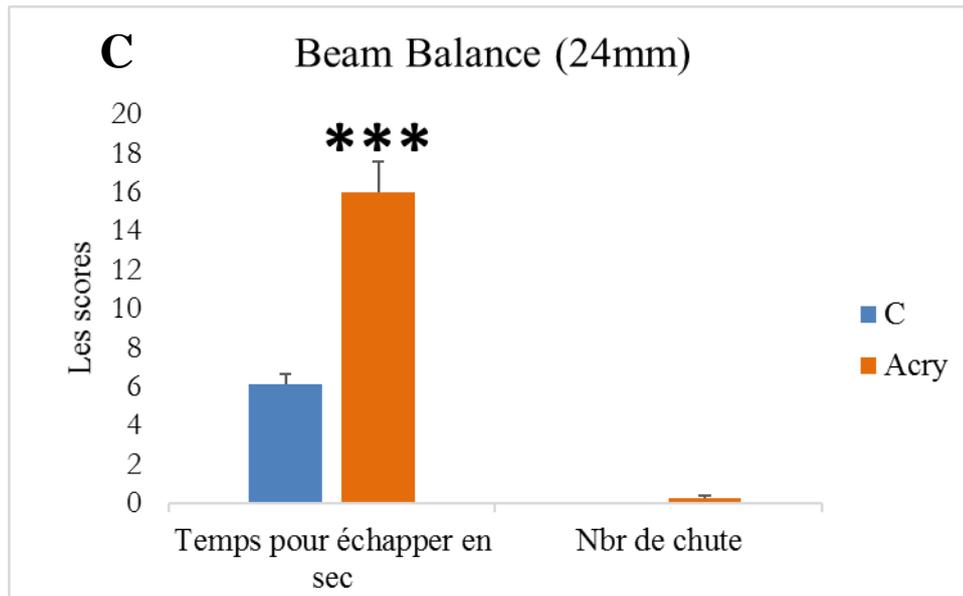


Figure 53: L'évaluation de la coordination motrice des lots (C et Acry) par le test de la poutre d'équilibre (A : 6mm, B :12mm, C : 24mm). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (**P \leq 0.01, ***P \leq 0.001).

3.6 L'évaluation des capacités d'apprentissage et de la mémorisation

(Barnes Maze):

Ce test renferme deux phases, les résultats de la phase d'acquisition montrent une élévation significative de la latence au sein du lot intoxiqué vis à vis le lot C (dès le J2) (**P \leq 0.01) (figure 54), simultanément aucune corrélation significative apparaît entre ces deux groupes pour le nombres d'erreurs effectués durant la même phase (figure 55), en ce qui concerne la stratégie d'exploration on avait remarqué que les souris (C, Acry) explorent le labyrinthe de façon aléatoire (Random) au début (J1, J2), mais progressivement une stratégie assez ordonnée se mis en place (Serial ensuite Direct).

Pour la phase de mémorisation, le test de rétention effectué le J6 ne montre aucune différence significative entre les groupes à tester pour les différents paramètres comportementales mesurés, à l'égard du test à long terme, la latence et le temps passé dans chaque quadrant pour les souris intoxiqués se marquent non significatif que celle des souris contrôles, de plus on avait remarqué que les animaux intoxiqués explorent le dispositif et visitent en alternance les deux quadrants cible et opposé comparativement aux animaux contrôles qui ont mémorisés l'emplacement du trou cible vont se réfugier directement, statiquement ces observations n'étaient pas illustrer par l'analyse ANOVA (différence non significative) (figure 56, 57).

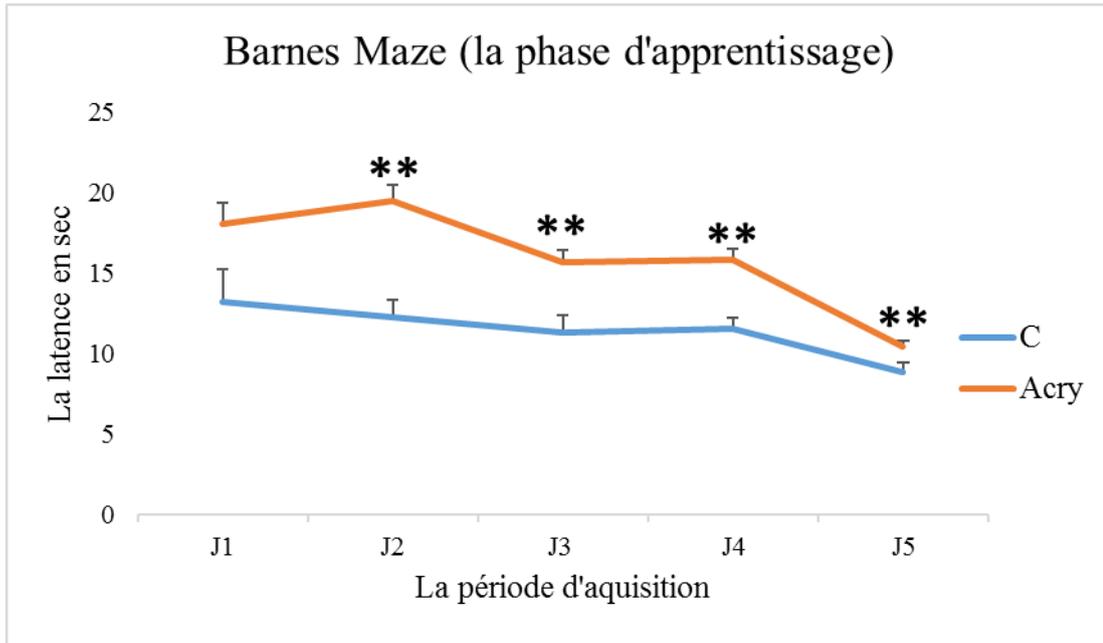


Figure 54: L'évaluation des capacités d'apprentissages par le test de Barnes (le temps de latence deux lots : C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (** $P \leq 0.01$).

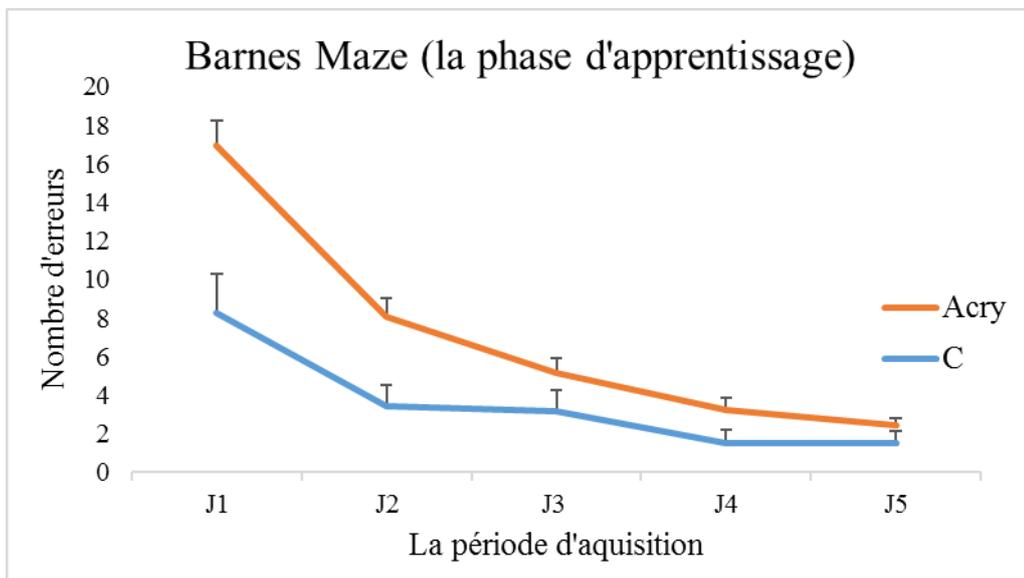


Figure 55: L'évaluation des capacités d'apprentissages par le test de Barnes (Le nombre des erreurs des deux lots : C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (* $P \leq 0.05$).

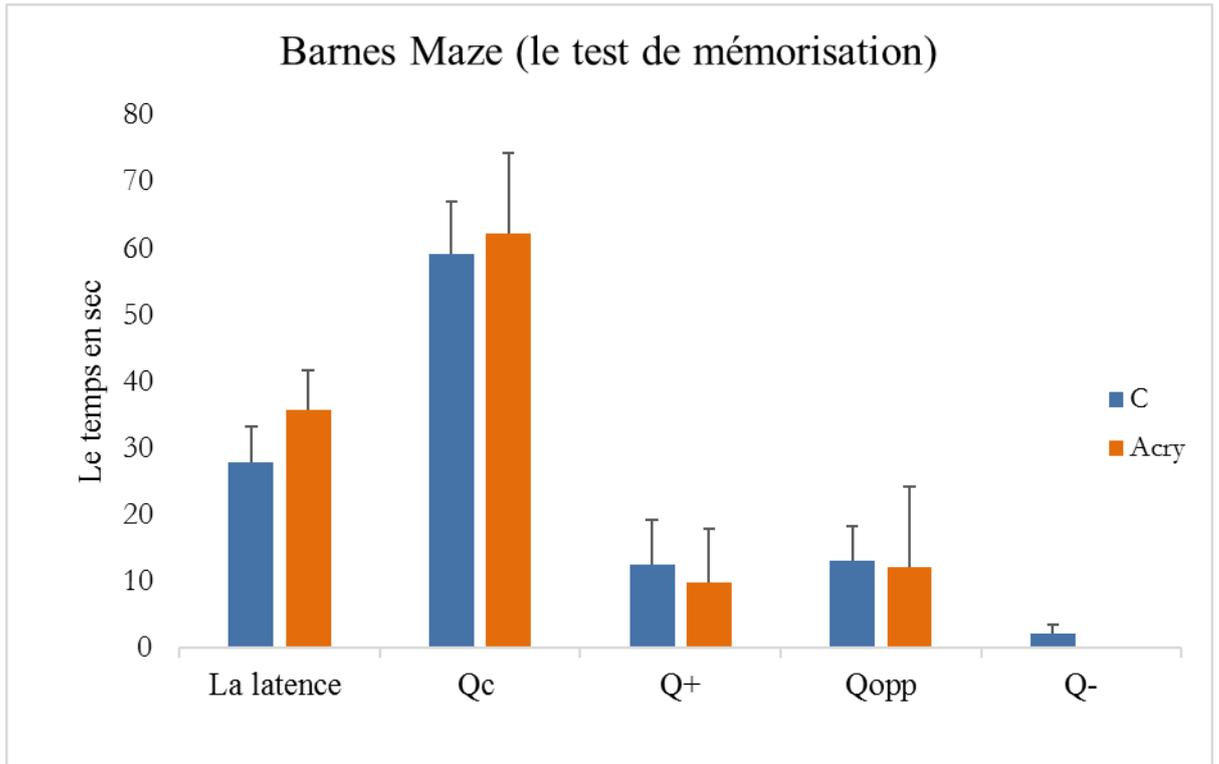


Figure 56: L'évaluation des capacités de rétention par le test de mémoire (la latence et le temps passé dans chaque quadrant pour les deux lots : C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (* $P \leq 0.05$).

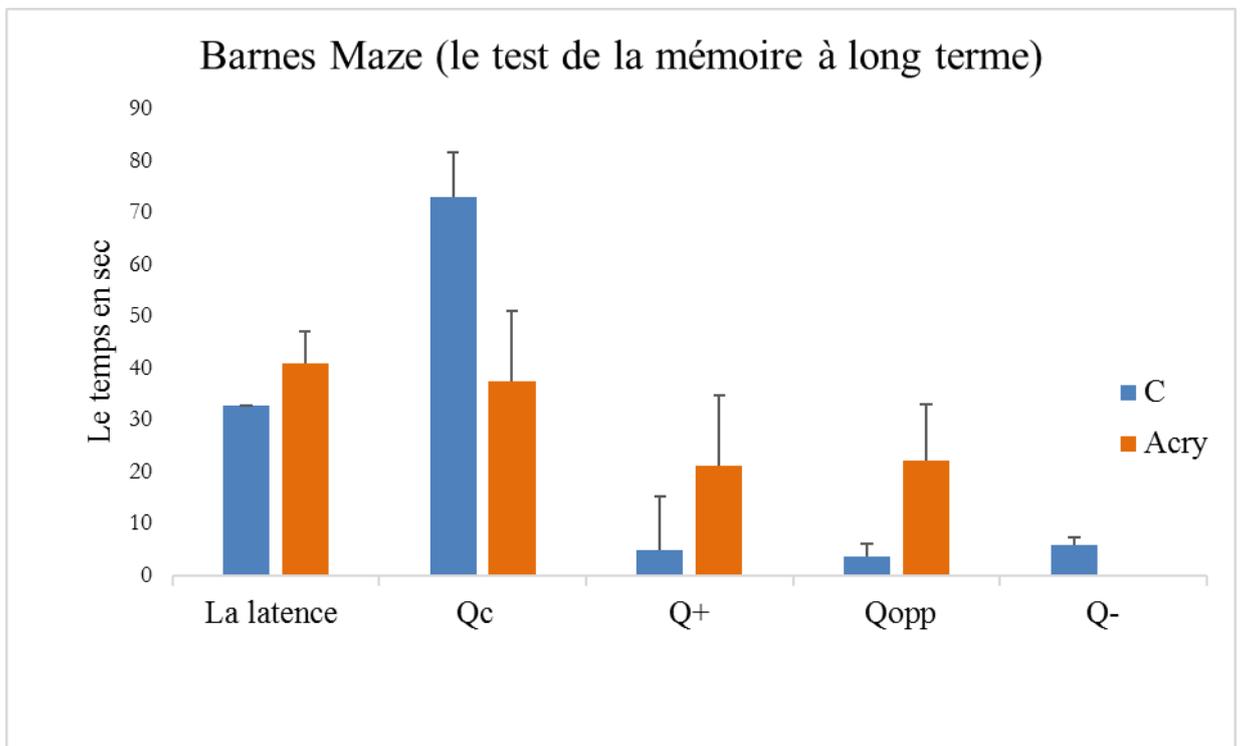


Figure 57: L'évaluation des capacités de rétention par le test de mémoire à long terme (la latence et le temps passé dans chaque quadrant pour les deux lots : C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (* $P \leq 0.05$).

4. Les effets d'Acry sur les paramètres biochimiques :

Les résultats de la biochimie sanguine signalent une corrélation significative entre l'administration orale de l'Acry et l'instauration d'un état de stress, où le dosage de la glycémie met en évidence que l'Acry génère une hyperglycémie au sein du lot intoxiqué comparé au lot C (différence significative : * $P \leq 0.05$) (figure 58), de plus le dosage de la créatinine (figure 61) ainsi le cholestérol total (figure 59) se révèlent hautement significatif (une élévation) entre les animaux Acry relativement aux C (** $P \leq 0.001$), pour le dosage des triglycérides, nos résultats indiquent statiquement une diminution significative entre ces deux lots (C et Acry) (figure 60), par contre la différence existant entre ces animaux ne montrent aucune signification pour le taux plasmatique d'urée (figure 62).

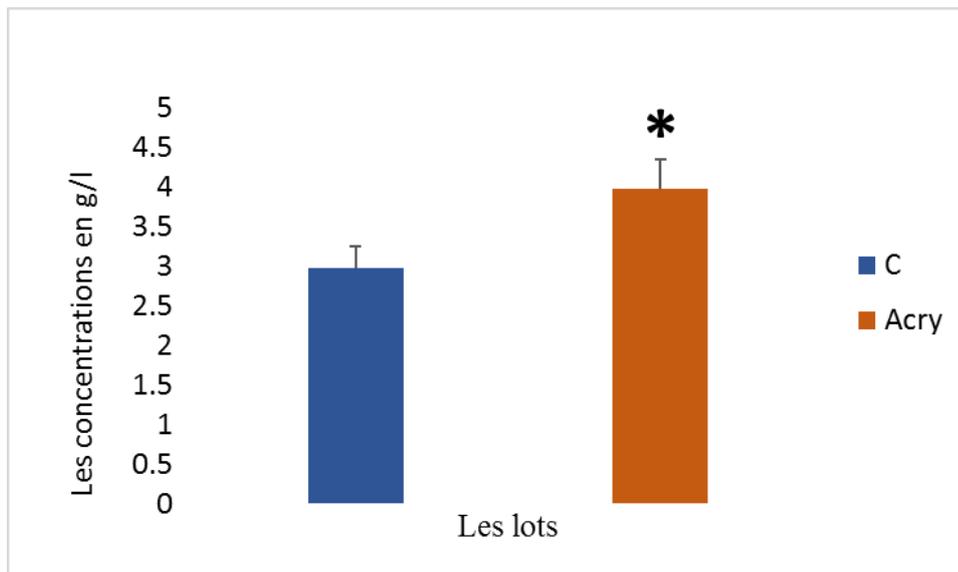


Figure 58: Les effets d'Acry sur la glycémie (comparaison des deux lots : (C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (* $P \leq 0.05$).

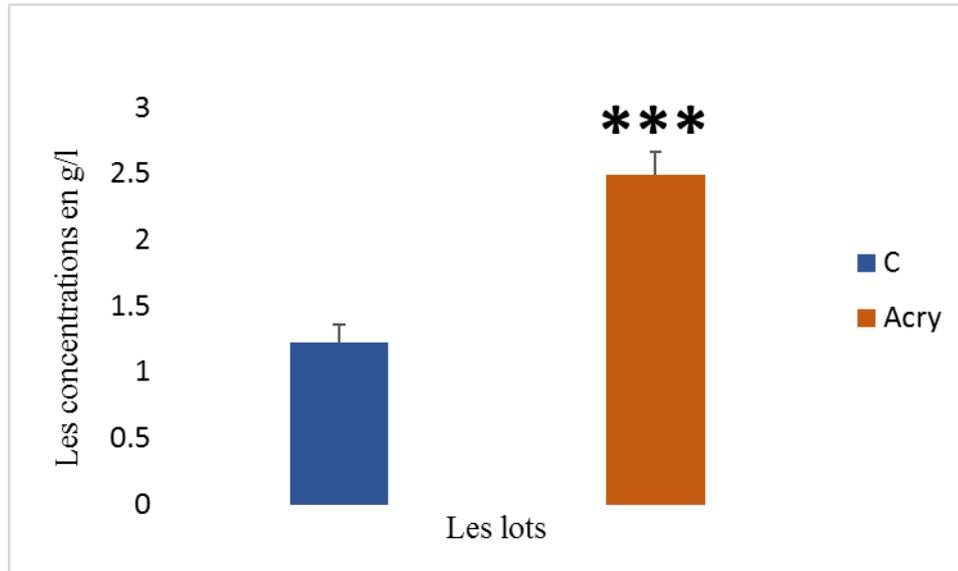


Figure 59: Les effets de l'Acry sur les paramètres lipidiques : le dosage du cholestérol total (comparaison des deux lots : (C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (***) $P \leq 0.001$).

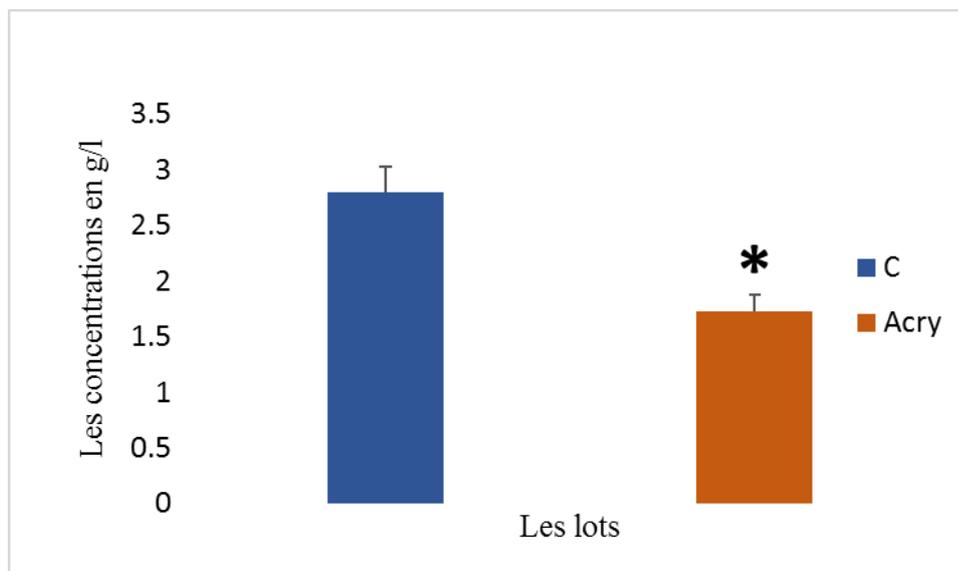


Figure 60: Les effets de l'Acry sur les paramètres lipidiques : le dosage des triglycéride (comparaison des deux lots : (C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (* $P \leq 0.05$).

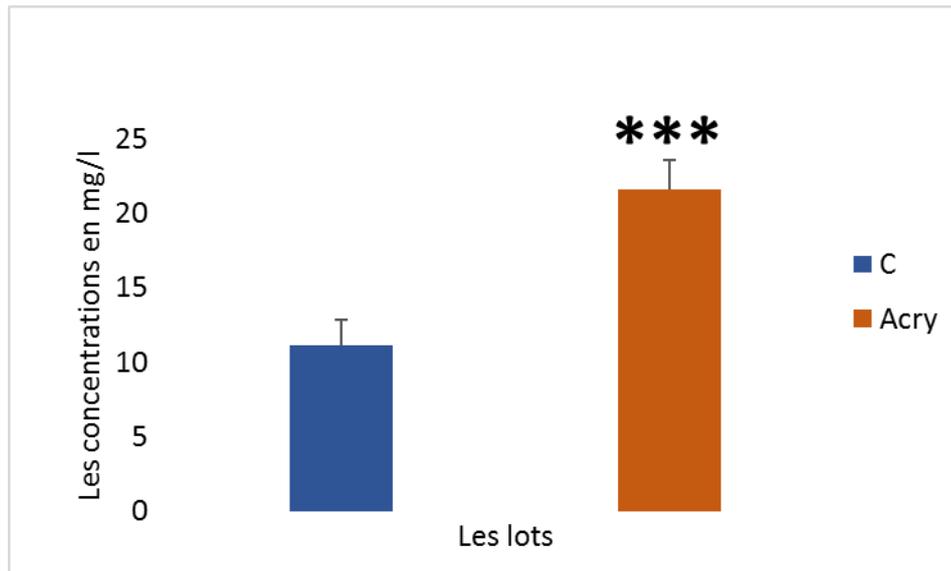


Figure 61: Les effets de l'Acry sur les paramètres rénaux : le dosage de la créatinine : le dosage de la créatinine (comparaison des deux lots : (C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (* $P \leq 0.05$, *** $P \leq 0.001$).

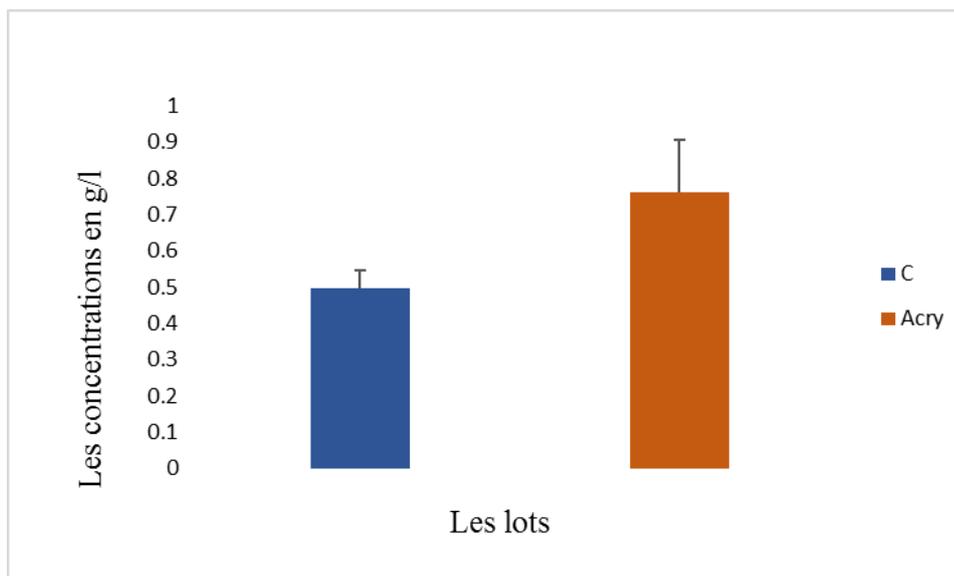


Figure 62: Les effets d'Acry sur les paramètres rénaux : le dosage de l'urée (comparaison des deux lots : (C et Acry). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (* $P \leq 0.05$).

5. Les effets d'Acry à l'échelle microscopique :

➤ Au niveau cérébral :

L'analyse microscopique des sections histologiques du parenchyme cérébral chez les souris C et Acry (Figure 63) a révélé une conservation de l'architecture cellulaire

normale chez les souris C (y compris les différentes couches cellulaires qui contiennent des capillaires sanguins, des cellules des grains: GC, les cellules gliales ainsi que les cellules pyramidales: PC) à savoir un aspect cellulaire normal (des noyaux et des cytoplasmes), des capillaires normaux avec une absence de toute lésion, cependant l'observation microscopique des sections cérébrales issues des souris intoxiquées par l'Acry montre intensivement des lésions variables: des spongiose (Figure 64), des vacuolisations (Figure 65) et des nécroses (Figure 66) des cellules pyramidales, des nécroses des cellules de grains (caryorrhixie) (Figure 67) et des congestions (Figure 68).

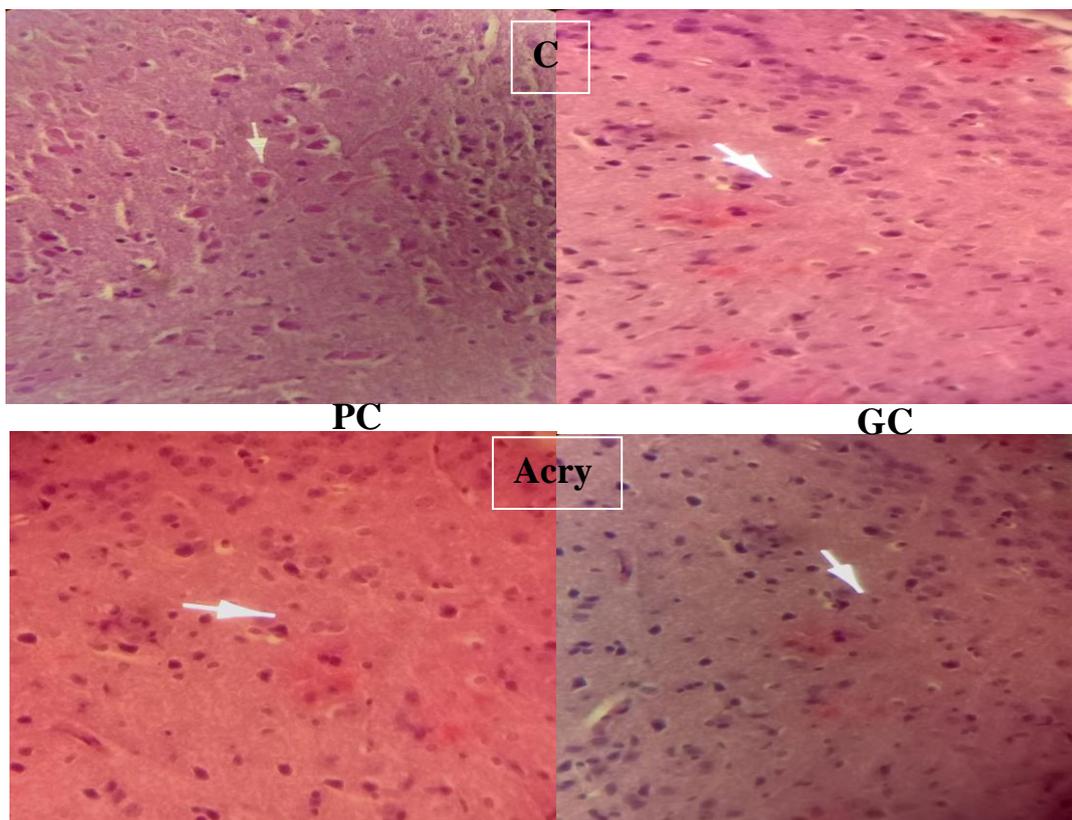


Figure 63: Une microphotographie (Gr×40) démontrant l'aspect cellulaire du parenchyme cérébral chez les deux sections histologiques (C et Acry).

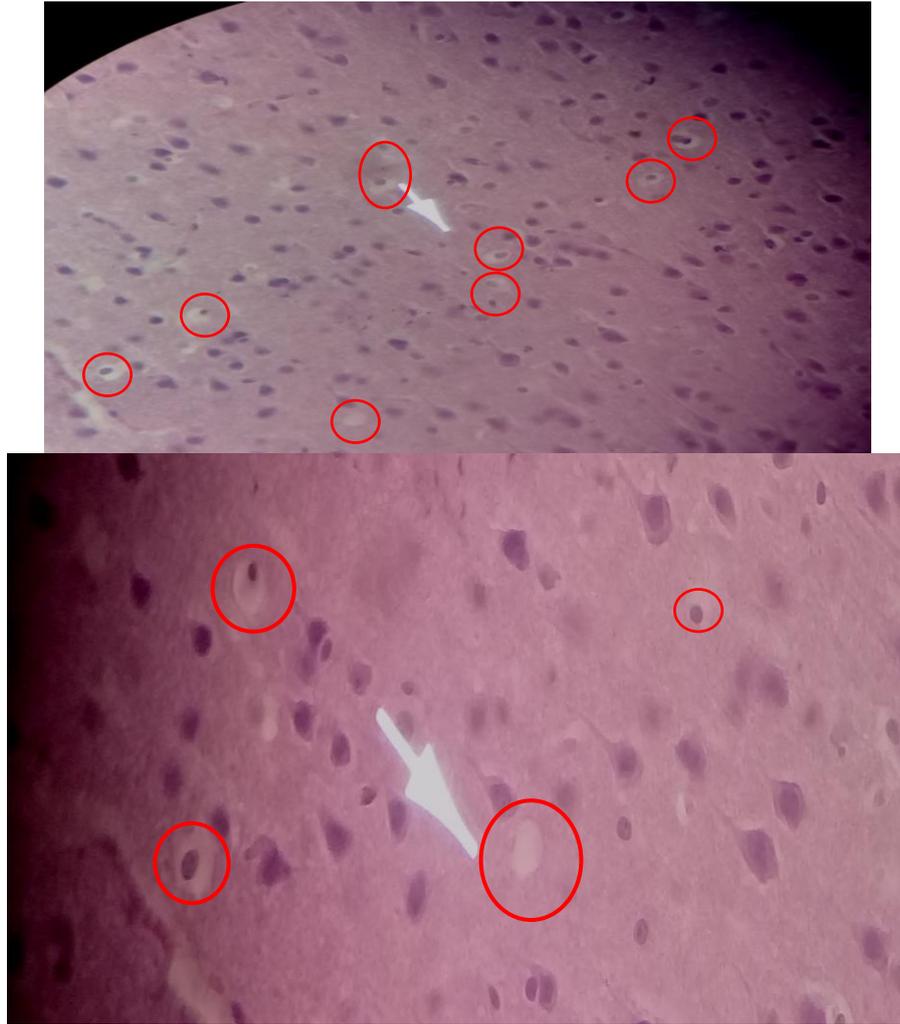


Figure 64: Une microphotographie (Gr×40) démontrant des spongioses des cellules pyramidales chez les sections histologiques Acry.

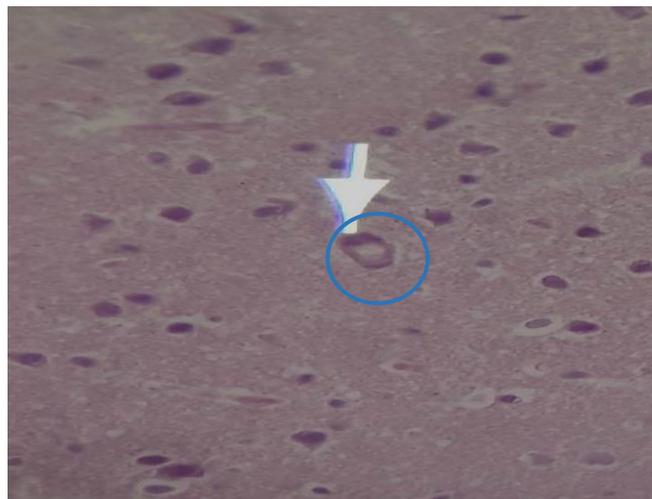


Figure 65: Une microphotographie (Gr×40) démontrant une vacuolisation des cellules pyramidales chez les sections histologiques Acry.

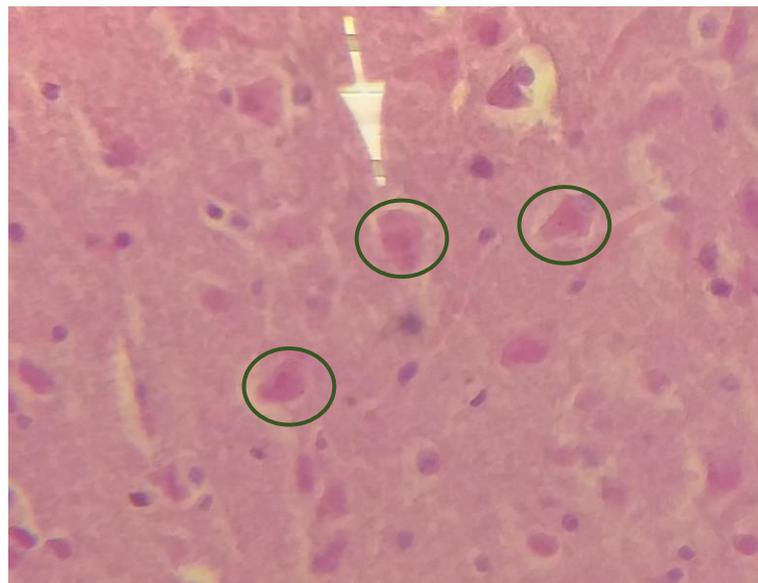
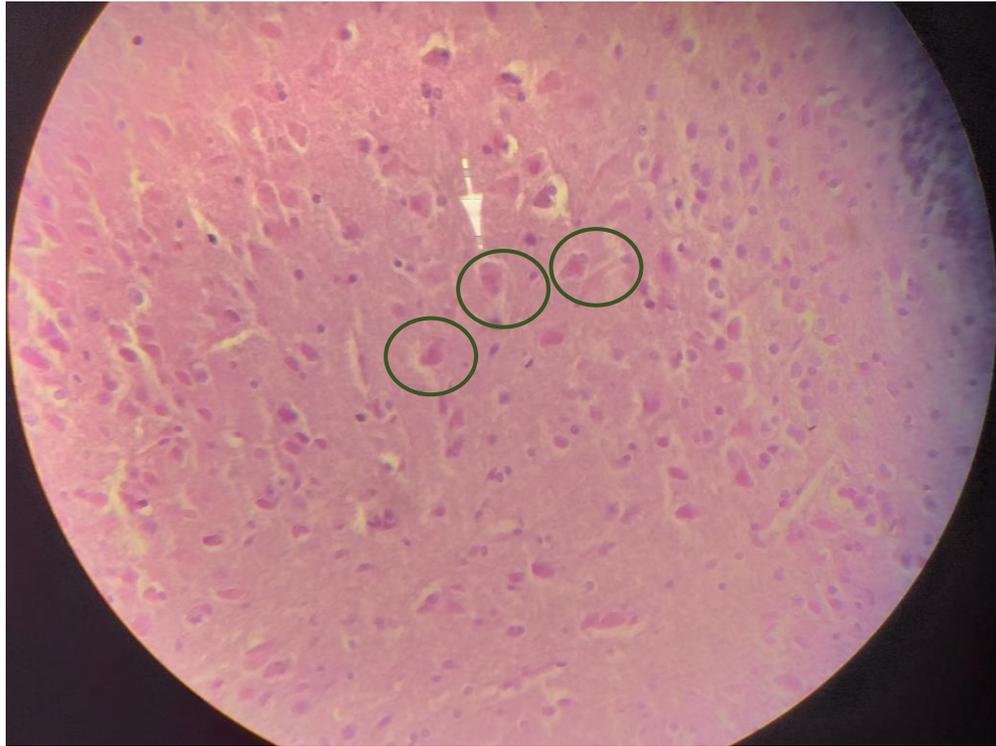


Figure 66: Une microphotographie (Gr×40) démontrant des nécroses des cellules pyramidales chez les sections histologiques Acry.

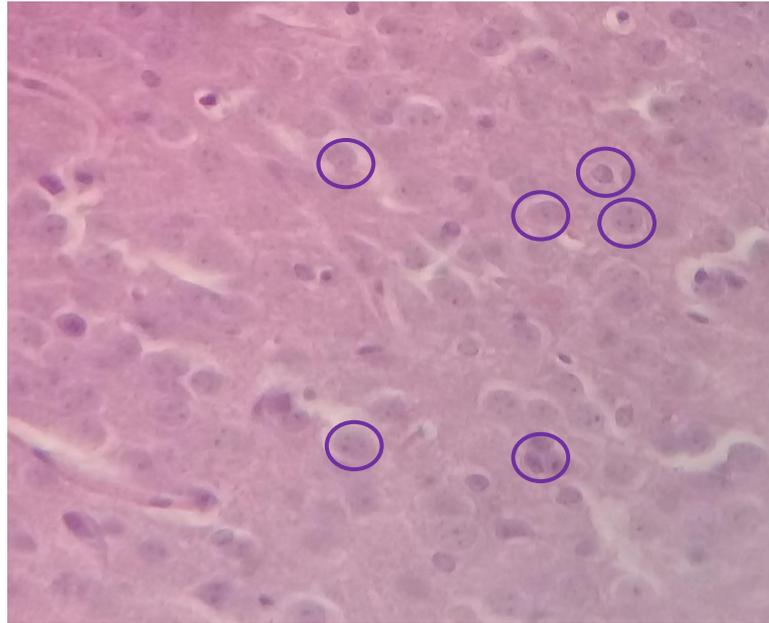
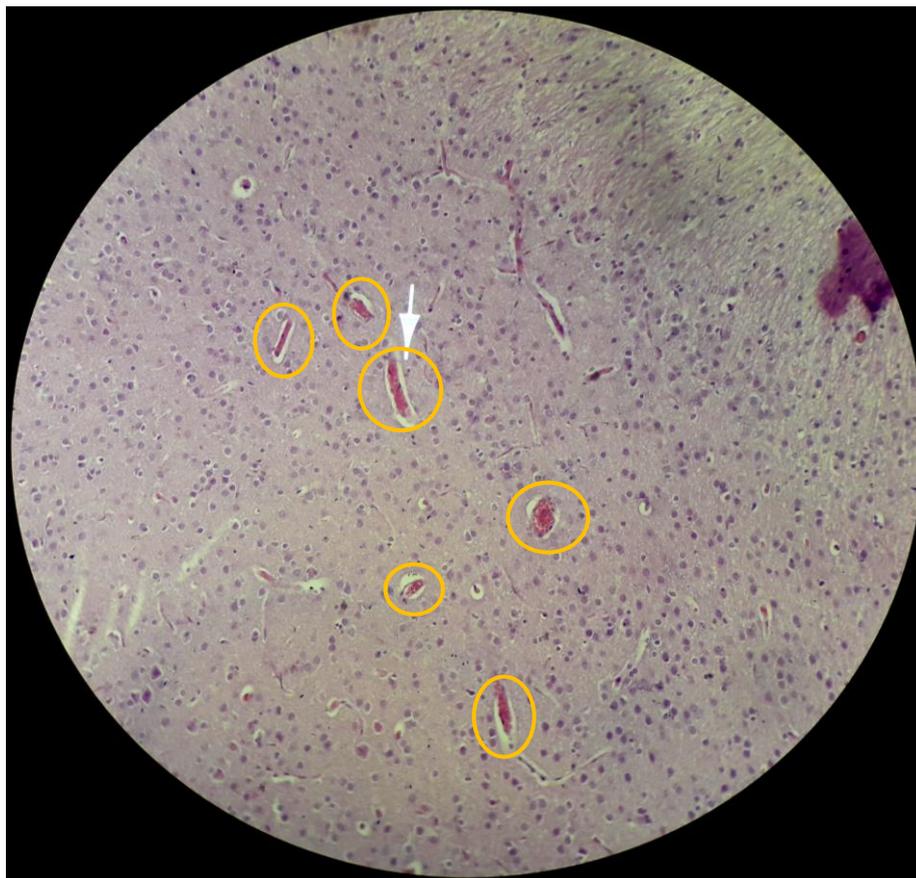


Figure 67: Une microphotographie (Gr×40) démontrant des nécroses des cellules granuleuses chez les sections histologiques Acry.



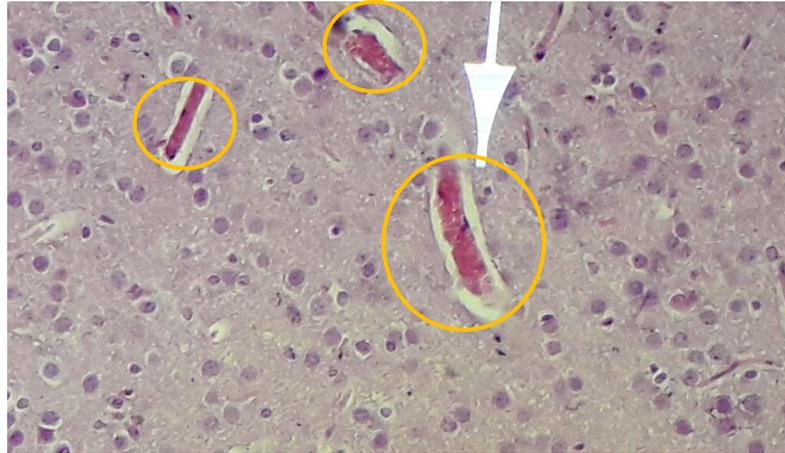


Figure 68: Une microphotographie (Gr×40) démontrant l'aspect cellulaire des congestions des capillaires sanguine chez les sections histologiques Acry.

✚ Au niveau cérébelleux :

La comparaison entre les coupes histologiques du cervelet sous le microscope optique issus des lots Acry et C (Figure 69) a permis de constater une conservation d'une architecture cellulaire reparti en couches (la couche moléculaire: MC, une couche intermédiaire des cellules de Purkinje: Pj C et une couche interne des cellules de grains: gC (la partie corticale) puis une partie médullaire: M) à savoir un aspect cellulaire normal (forme et nombre) et des capillaires normaux chez les sections C comparativement au lot intoxiqué qui montre des altérations importantes comme un rétrécissement de la couche des cellules de grains (diminution du diamètre) (Figure 70. 1,3) et des déformations du folias de la couche granuleuses (des invaginations des plis) (Figure 70. 2) et une réduction du nombre des cellules de Purkinje (Figure 71) avec une congestion au niveau médullaire (Figure 72).

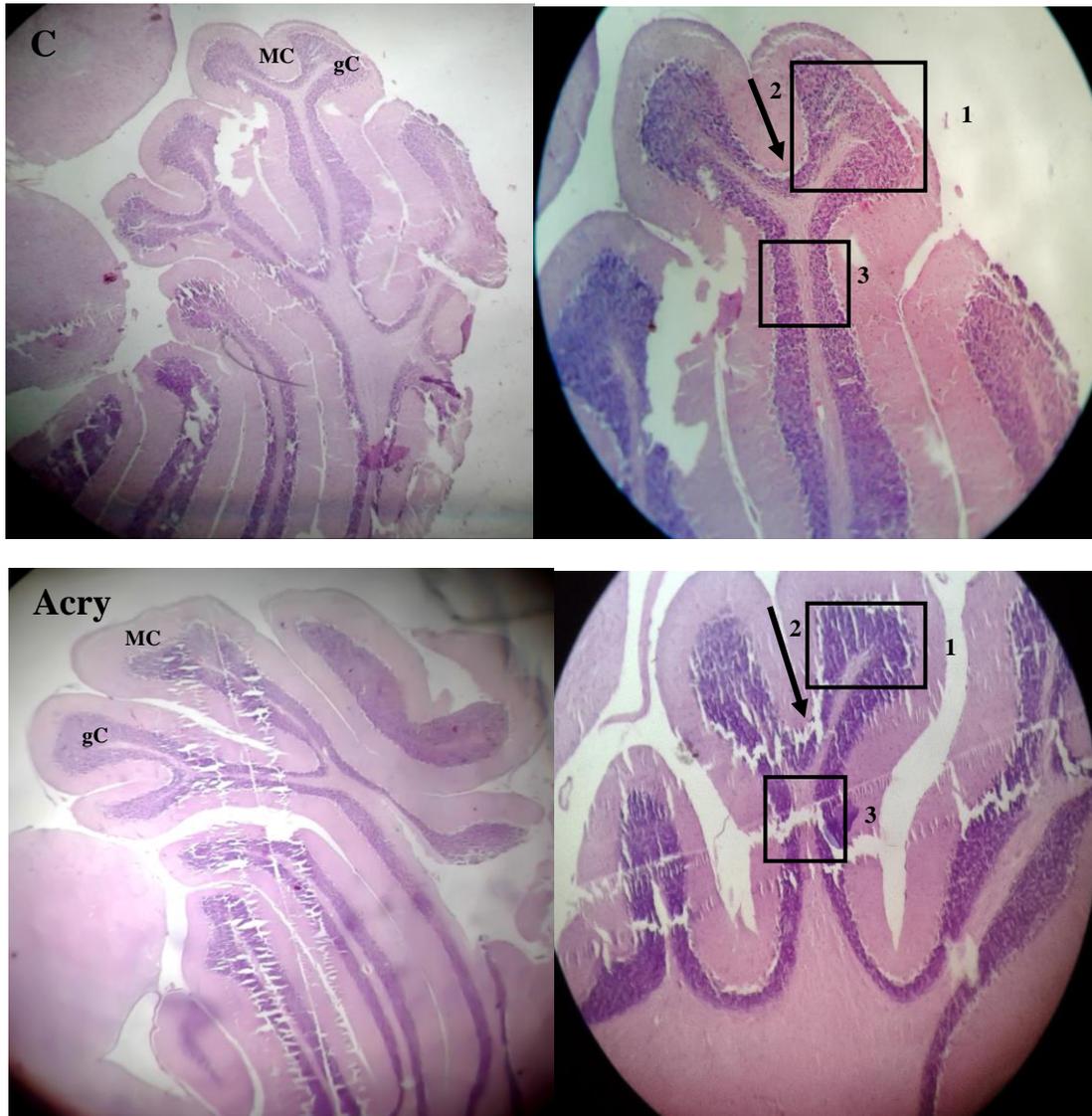
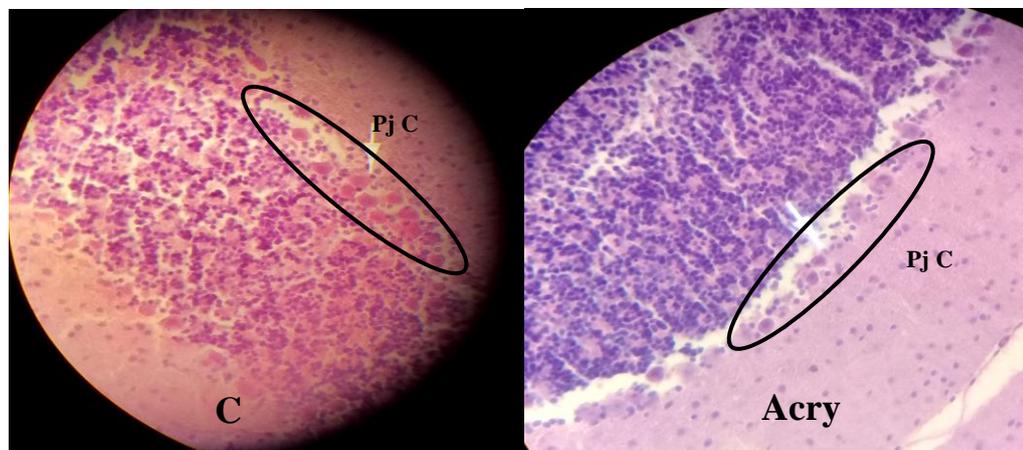


Figure 69: Une microphotographie (Gr×40) démontrant l'aspect cellulaire du parenchyme cérébelleux des deux sections histologiques (Cet Acry).



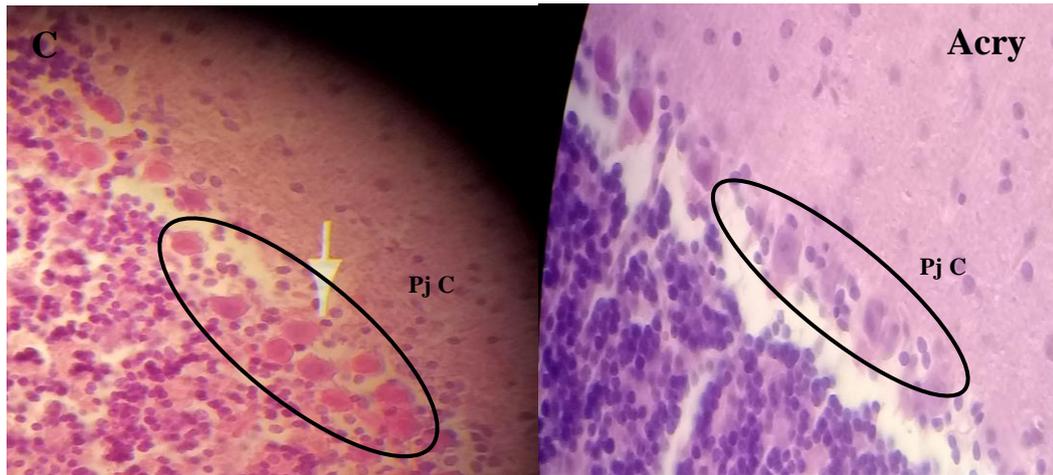


Figure 70: Une microphotographie (Gr×40) démontrant une réduction de cellules de Purkinje chez les sections histologiques Acry comparées aux C.

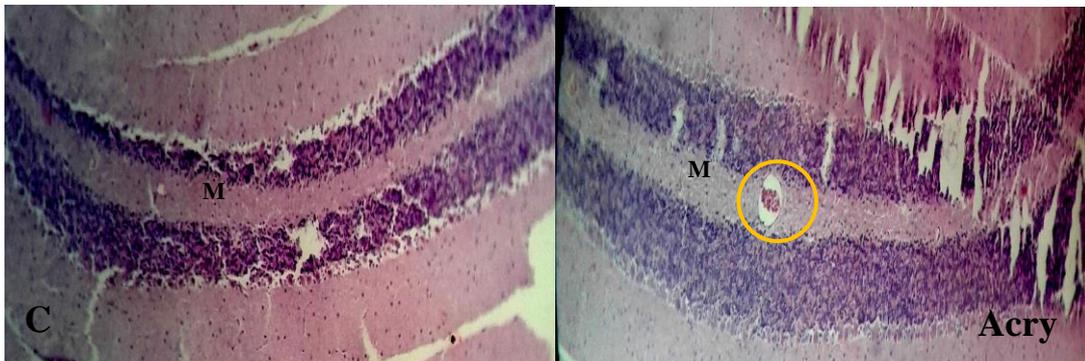


Figure 71: Une microphotographie (Gr×10) démontrant une congestion médullaire des sections histologiques Acry comparées aux C.

Discussion

Ces dernières années, l'Acry a suscité un grand intérêt due à son usage intensivement au niveau mondial, sa formation dans les aliments traités thermiquement, de plus sa toxicité (neurotoxicité, reprotoxique, génotoxicité, cancérigène...), ces effets indésirables vis à vis les systèmes biologiques notamment la neurotoxicité ont été signalé auparavant chez les humains et les animaux (**Gökmen, 2016**).

Bien que les documentations sur les effets neurotoxiques, mutagènes et cancérogènes sont énormes, les données sur les effets neurotoxiques, biochimiques et morphologiques au cours des études du développement embryologique et postnatal sont rares, notre étude vise à étudier son pouvoir neurotoxique (à raison 400ppm) pendant cette période à travers le modèle animal : *Mus musculus*, les résultats obtenus nous permettent de constater que l'Acry engendre les effets suivants :

➤ **L'Acry est un agent tératogène et affecte la période de gestation et lactation:**

L'exposition orale à l'Acry était traduite par une neurotoxicité chez les femelles gestantes et allaitantes qui avait exprimé par l'évasement du panard (ceci sera discuter ultérieurement) et une létalité périnatale et postnatale au sein des lots intoxiqués, cela est due à la forte solubilité d'Acry et ses métabolites (comme le Glyc) qui facilitent leurs passages à travers le placenta et le lacté (**Friedman et al., 1999 ; Sorgel et al., 2002 ; Schettgen et al., 2004 ; Takahashi et al., 2008**) puis sa distribution dans des nombreux tissus foetales (**Sumner et al., 2001**) en réduisant le nombre des fœtus post-implantatoire (**Tyl et al., 2000**) et en conduisant à des malformations, un retard neurodéveloppemental et des mortalités (**Wise et al., 1994 ; El-Sayyad et al., 2010**).

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par (**Tyl et al., 2000 ; Garey et al., 2005 ; El-Sayyad et al., 2010 ; Allam et al., 2011 ; Ogawa et al., 2012 ; Allam et al., 2013 ; Krishna et al., 2015 ; Erdemli et al., 2016**) qui ont signalé que l'exposition à l'Acry induit une toxicité développementale (retard de développement intra-utérine), altère l'organogénèse et retarde la croissance périnatale (par des signes sensorimoteurs visuelles : l'ouverture des yeux, des l'oreilles, l'apparition des poils et la perte de poids... etc), alors que la perte du poids périnatale (indicateur le plus sensible à la toxicité du développement) selon **Adlard et Dobbing (1971)** résulte principalement aux effets intra-utérine de l'Acry où il induit un déclin de croissance chez les fœtus (car ces organismes en développement sont incapables de métaboliser ce xénobiotique une

fois qu'il passe dans le sang à travers le placenta et le cordon ombilicale: déficience enzymatique), par ailleurs **El-Sayyad et al. (2010)** montrent que l'Acry réduit le transport d'oxygène aux tissus fœtales due à la formation des adduits avec l'hémoglobine ce qui conduit à des dégénérescences cellulaires, ainsi **Ogawa et al. (2010)** déduit que la toxicité prénatale par l'Acry avait démontré une élévation de la protéine Reelin et par conséquent des anomalies de la migration neuronale, au temps que ce signal Reelin (une glycoprotéine) produit par certains neurones du système nerveux central assure l'organisation et la cytoarchitecture de nombreux régions cérébrales comme le néocortex, l'hippocampe et le cervelet (**Béatrice et al., 1998**), tandis que les travaux d'**Erdemli et al. (2016,2018)** et de **Verspeek et al. (2017)** ont démontré que la toxicité maternelle induite par l'Acry à forte et à faible doses était traduite par un stress oxydant, des lésions des tissus cérébraux fœtales couplées à des niveaux réduits le facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF) malgré que ce dernier soit un facteur neurotrophique qui stimule la neurogénèse et la croissance, la survie neuronale, la différenciation, la plasticité synaptique ainsi qu'il assure un rôle anti-apoptotique (**Mansour et al., 2017**).

D'autre part **Allam et al. (2008, 2013)** et **Al-Gholam et al. (2015, 2016)** montrent clairement que l'Acry engendre une neurotoxicité développementale qui est due au stress oxydatif décelé par la peroxydation des lipides au niveau cérébral, cérébelleux et au niveau de la moelle épinière avec une diminution de la GSH et une inhibition des enzymes antioxydant (la peroxydase et le superoxyde dismutase) chez les progénitures ce qui induit des changements tissulaires, des perturbations des enzymes sériques, des protéines, et des lipides ainsi des concentrations d'électrolytes, visuellement une réduction des performances et les réflexes sensorimoteurs a été installée, de même **El-Sayyad et al. (2010)** indique que son pouvoir toxique délétère aussi le développement osseux, dans le même contexte **Al-Gholam et al. (2015, 2016)** affirment que la longueur de tête, de cou, de la queue et de la moelle épinière ont été nettement inférieurs chez des rats immatures exposé à cet agent outre aux atteintes de motricité et un déclin du poids corporels ainsi qu'une diminution du rapport matière grise/matière blanche au niveau de la moelle épinière et une neurodégénérescence tandis que des neurones moins différenciés et immatures y compris des lésions élémentaires multiples ont été montré au niveau de la corne dorsale.

Comme un effet endocrinien, il a été prouvé que l'Acry diminue le taux du prolactine par un mécanisme méconnu (**Uphouse et al., 1982**) ce qui va conduire à une mauvaise lactation qui se termine par une malnutrition (carences en protéines) des portées (perte de poids) et une mortalité (**Frieda et William, 1999 ; Abdul-Hamid et al., 2007**).

➤ **L'Acry perturbe l'évolution pondérale :**

L'évaluation du poids corporel durant l'expérimentation est un révélateur des effets indésirables sur la croissance pondérale, dans notre étude, le traitement oral d'Acry pendant 24 jours chez des souris sevrées avait diminué le poids corporel.

Nos résultats ont été en concordance avec ceux de (**Wang et al., 2010 ; Rawi et al., 2012 ; Yener et al., 2019**) contrairement aux **Stošić et al. (2018)** et **Prasad et Muralidhara (2018)** qui ont conclu que l'exposition des rats à l'Acry n'induit pas une perte de poids.

Wang et al. (2010) et **Rawi et al. (2012)** ont proposé que cette diminution du poids est due à la formation des adduits d'hémoglobine de façon accrue, d'autres chercheurs comme (**Bergmark et al., 1993 ; Barber et al., 2001 ; Yousef et El-Demerdash , 2006 ; Rawi et al., 2012 ; Lebda et al., 2015 ; Belhadj., 2018**) ont démontré que ce déclin pondéral peut découler d'une carence en protéines totales (tissulaires et plasmatiques), ceci est cohérent avec (**Wang et al., 2005 ; Abdul-Hamid et al., 2007 ; El-Sayyad et al., 2011**) qui suggèrent que cette carence due à la malnutrition (l'effet direct de l'Acry sur la croissance) ou à la dégradation excessive des protéines tissulaires, toutefois les travaux de (**Garey et Paule, 2007, 2009 ; Lin et al., 2009 ; Shi et al., 2012 ; Mohi et al., 2015 ; Tan et al., 2019**) signalent également que l'Acry pourrait affecter l'appétit des rongeurs en diminuant graduellement l'apport alimentaire et en entraînant une perte de poids qui était probablement lié au comportement démotivant (la démotivation apéritive).

Outre le déclin corporel apparaît secondairement à la neurotoxicité en affectant la motricité (incapable de se nourrir) (**El-Bohi et al., 2011**) ou en altérant les centres hypothalamiques responsables de la faim et de la soif (**Alrethaia, 2019**).

➤ **L'Acry engendre des troubles neurocomportementaux :**

✚ **Les effets de l'Acry sur l'activité locomotrice :**

Les résultats obtenus au cours de notre étude montrent que l'Acry induit des troubles de motricités chez les souris intoxiquées qui se manifestent par un évasement des pattes postérieures voir une paralysie, une incoordination motrice et une réduction du nombre de redressement, évaluant à travers les tests Gait Score, Beam Balance et le test de l'Open Field respectivement, ces résultats s'accordent avec plusieurs études (**Garey et al., 2005 ; Rawi et al., 2012 ; Shi et al., 2012 ; Satyajit et al., 2015 ; Goudarzi et al., 2019 ; Alrethaia, 2019**).

L'atteinte de motricité est une caractéristique prédominante d'exposition à l'Acry qui a été constaté chez toutes les espèces animales étudiées, ces altérations ont été expliquées par plusieurs hypothèses, ici nous discutons nos résultats selon trois hypothèses principales :

D'après des études antérieures le **premier mécanisme** qui a été suggéré pour expliquer ces troubles de locomotion c'est l'axonopathie distale dans SNP où l'Acry entraîne la dégénérescence des nerfs périphériques dont la cible principale c'est le nerf sciatique et le nerf tibial, ce concept est fondé sur l'observation des lésions au niveau du nerf sciatique qui se manifestent histologiquement par une accumulation des neurofilaments, des profils tubulovésiculaires et des mitochondries dégénérées causant par la suite un gonflement local aboutissant à une dégénérescence de l'axone, ces lésions souvent débute dans la partie distale et progresse de façon rétrograde vers les corps cellulaires, un processus connu sous le nom de « dying back » (**Ko et al., 1999 ; Yu et al., 2006 ; Dasari et al., 2018a**).

Le mécanisme qui était mis en évidence pour justifier cette dégénérescence c'est le pouvoir d'Acry à inhiber le transport axonal rapide antérograde dans le nerf sciatique en diminuant l'affinité entre la kinésine et les microtubules suit à une interaction covalente (alkylation), ainsi qu'une inhibition directe ou indirecte du transport axonal rétrograde (**Sickles et al., 1990**).

D'autres chercheurs ont également suggéré que l'interférence avec le métabolisme du corps cellulaire (**IRIS, 2010**), la rupture du cytosquelette axonal (**Lapadula et al., 1989**), une diminution de l'activité de la pompe Na^+/K^+ ATPase axolémique (**LoPachin**

et Lehning, 1994) peuvent représenter des facteurs aboutissant à la dégénérescence des axones.

Récemment, Guan et al. (2018) et Yu et al. (2013) indiquent que l'Acry altère les protéines cytosquelettiques, il agit sur les microtubules (MTs) en augmentant l'expression de protéine β -tubuline dans le nerf sciatique ce qui conduit à la destruction de l'assemblage des microtubules jusqu'à leurs déstabilisations et par la suite une dégénérescence axonale (Guan et al., 2018), également il diminue l'expression des protéines des neurofilaments (Yu et al., 2013).

En effet, la deuxième hypothèse qui a été suggéré par LoPachin et al. (2002) montrent que ces atteintes sont dues probablement à une perturbation dans la transmission nerveuse dans le SNC et SNP (LoPachin et al., 2000 ; LoPachin, 2002 ; LoPachin 2004).

Les mécanismes décrits pour élucider cette perturbation comprend une formation d'adduits entre l'Acry et les protéines présynaptiques, où il permet de mettre en évidence l'importance de la structure chimique de l'Acry qui lui offre une grande réactivité vis-à-vis ces protéines, cette dernière participe dans une grande mesure à son pouvoir neurotoxique, entant qu'un composé carbonylés α , β -insaturé, l'Acry est considéré comme un électrophile mou qui réagit préférentiellement avec des nucléophiles mous, dont l'exemple majoritaire biologiquement les groupements thiol (SH) de résidus de cystéine, ces groupes peuvent exister sous forme thiol (SH) ou thiolate (S^-) (la forme thiolate se trouve généralement dans des triades catalytiques où son ionisation est conditionné par un microenvironnement alcalin), cette forme lui rendre très réactifs et par conséquent, il réagit plus rapidement avec les électrophiles comme l'Acry (LoPachin et Barber, 2006; LoPachin et al., 2008 ; LoPachin et Gavin, 2012), le résultat de cette interaction selon LoPachin et Barber (2006) est une inhibition irréversible de la neurotransmission suite à la perte de la neuromodulation dirigée par le NO endogène (sachant que la signalisation du NO module la transmission synaptique en inhibant de façon réversible la fonction de plusieurs protéines impliquées dans cette neurotransmission à travers la réaction typique de la S-nitrosylation), parmi les processus affectés par l'inhibition d'Acry irréversiblement sont la libération, la recapture, le stockage vésiculaire des neurotransmetteurs car cette synaptotoxicité n'est

pas suffisamment spécifique pour les terminaisons nerveuses, vu que plusieurs protéines contenant les résidus cystéines représentent les cibles d'Acry où il réagit de manière relativement non spécifique vers eux (**LoPachin, 2004**), les travaux de **Barber et LoPachin (2004)**, **LoPachin et al. (2004)**, **LoPachin et al. (2006)** et de **LoPachin et al. (2007)** ont décrit ces altérations in vivo et in vitro, de même ceci a été identifiée au niveau de plusieurs synapses périphériques et centrales, notamment au niveau de la jonction neuromusculaire (**Goldstein et Lowndes, 1979, 1981 ; Tsujihata et al., 1974**).

En parallèle, certaines études expliquent les troubles de motricités par une réduction dans le système monoaminergique (**El-Yamany et Bayomy, 2007 ; Lebda et al., 2015**) comme l'abaissement des taux de la dopamine qui est un neuromodulateur essentiel dans le contrôle de l'activité locomotrice au niveau centrale (**Agrawal et Squibb., 1981 ; Tareke et al., 2009 ; Prasad et Muralidhara, 2014**), l'implication de l'acétylcholine estérase (AChE) a été également proposé par d'autres chercheurs où ils ont indiqué que l'Acry peut causer un dysfonctionnement sévère dans la transmission synaptique des neurones cholinergiques au niveau de SNC et le SNP (**Zhu et al., 2008**), plusieurs travaux ont permis de mettre en évidence ce changement dans l'activité de l'AChE dont certains signalent une déficience (**Yousef et El-Demerdash, 2006 ; Lebda et al., 2015 ; Kopanska et al., 2017 ; Shrivastava et al., 2018**) alors d'autres signalent une augmentation (**Prasad et Muralidhara, 2014 ; Abou zaid et al., 2017**), par exemple l'étude de **Kopanska et al. (2017)** montrent que l'Acry inhibe l'activité de l'AChE dans l'hypothalamus et les muscles provoquant une stimulation excessive des membranes postsynaptique par l'acétylcholine et de ce fait une altération de la neurotransmission qui se traduit par un évasement des pattes tandis que **Husain et al. (1987)** montrent que cette inhibition peut être responsables de l'affaiblissement et une réduction de la vitesse de conduction au niveau des nerfs, cela conduit à suggérer que l'inhibition de cette enzyme peut représenter un déterminant important des propriétés neurotoxiques de l'Acry vu que les neurones cholinergiques sont impliqués dans des nombreuses fonctions du cerveau y compris la motricité (**Kopanska et al., 2015, 2017, 2018 ; Semla et al., 2017**), ces études ont été en accord avec la deuxième hypothèse afin d'expliquer le mécanisme impliqué dans ces déficiences en neurotransmission.

Une autre explication concernant l'incoordination motrice c'est que l'Acry a un impact sur le cervelet cela était confirmé à travers nos sections histologiques, en considérant l'implication de cette structure dans le contrôle de motricité ainsi que la production et le stockage des mémoires moteurs, une atteinte fonctionnelle dans les circuits cérébelleux peuvent engendrer des troubles de coordination telle que l'ataxie (Shi et al., 2012), selon les observations de Shi et al. (2012), les effets de l'Acry sur le cervelet pourraient être associés à l'expression accrue du GABA et des dommages aux niveaux des cellules de Purkinje, ceci est le résultats d'une synthèse accru du GABA via l'augmentation de l'expression du GAD65 (une enzyme impliquée dans la synthèse de GABA), cette augmentation de la fonction de synapses inhibitrices provoquent des dommages tardifs aux neurones notamment les cellules de Purkinje affectant par la suite la fonction motrice (Shi et al., 2012).

Concernant le **troisième mécanisme**, les troubles de motricité pourraient être expliqué également par une induction d'un stress oxydant dans le nerf sciatique et par conséquent une dégénérescence des tissus neuronaux (Zhu et al., 2008) un dysfonctionnement mitochondrial (Prasad et Muralidhara., 2014) ainsi qu'une activation de l'apoptose (Tabeshpour et al., 2019).

L'effet de l'Acry sur les niveaux d'anxiété, la dépression et l'exploration :

L'évaluation du niveau d'anxiété, la dépression et l'exploration par les trois tests neurocomportementaux (Dark and Light, Forced Swimming Test et l'Open Field) indique que l'Acry génère un comportement anxiogène chez les souris intoxiquées par rapport au contrôle et une réduction dans l'activité exploratrice, mais il n'entraîne aucun comportement de résignation chez ces souris.

Bien qu'une étude n'est disponible actuellement afin d'illustrer que l'Acry engendre des troubles d'anxiété ou de dépression, la plupart des données montrent que sa toxicité affecte les niveaux des neurotransmetteurs en induisant des fluctuations, en effet il a été documenté que ce neurotoxique agit sur le système monoaminergique en considérant que les monoamines (noradrénaline, dopamine, sérotonine) modulent le comportement tout à fait la sérotonine (5 -hydroxytryptamine 5-HT) et la dopamine contribuent au sensation de bien-être et le bonheur (Rawi et al., 2012 ; Prasad et

Muralidhara, 2014) comparativement à la noradrénaline qui est impliquée dans le stress (**Marie-Pierre et Le Moal, 2012**).

A la lumière de ces données, on suppose que l'anxiété et la démotivation observées chez les souris intoxiquées peut être à l'origine d'une perturbation dans le système monoaminergique en appuyant notre constatation par les travaux de **Dixit et al. (1981)** ; **Faria et al. (2018)** qui ont démontré que les variabilités en monoamines sont possiblement liées aux troubles comportementaux, également **Husain et al. (1987)** démontrent que ces troubles sont médiés par une diminution de la teneur en catécholamines.

D'après les études, il est difficile d'expliquer le mécanisme d'action de l'Acry vis à vis les neurotransmetteurs, cependant, des épreuves montrent que l'Acry interagit avec le précurseur des catécholamines la tyrosine (**Dixit et al., 1981; Husain et al., 1987 ; Mansour et al., 2017**) cette complexation puisse diminuer la concentration critique de ces précurseurs au niveau du cerveau, ce qui entraîne une inhibition de la synthèse des catécholamines, conformément à ces études, d'autres preuves indiquent que l'Acry augmente l'activité catalytique de la monoamine oxydase dans le cerveau du rat (**Mansour et al., 2017**), cela pourrait confirmer que la dégradation active pourrait diminuer les niveaux cérébraux en monoamines.

D'autres possibilités ne peuvent pas être écartées où la réactivité d'Acry affecte : la libération, la fixation postsynaptique, la recapture (par l'implication du deuxième mécanisme de la perturbation de la neurotransmission cité auparavant ; hypothèse de **Lopachin, 2002**) (**Husain et al., 1987**).

Les effets de l'Acry sur la mémoire et l'apprentissage :

Nous avons remarqué à travers le test de Barnes maze que l'Acry n'entraîne aucune trouble de la mémoire et de l'apprentissage. Nos résultats sont en accord avec l'étude de **Garey et Paule (2007)** où ils ont noté à travers le test de Morris Water Maze que l'Acry n'entraîne pas une perte de mémoire, cependant, l'étude de **Goudarzi et al. (2019)** montre que ce neurotoxique affecte la mémoire et l'apprentissage.

On explique ces résultats par le fait que le pouvoir neurotoxique de l'Acry dépend aux trois facteurs la dose la durée et la voie d'exposition, l'étude de **Sisnaiske et al. (2014)** démontrent in vitro que l'Acry peut moduler l'affinité des récepteurs glutaminergiques

NMDA vers leurs ligands, particulièrement à de faibles concentrations où ces récepteurs modulent la plasticité cérébrale et les processus de la potentialisation à long terme, outre **Yan et al. (2018)** confirment que l'exposition à l'Acry environ deux mois engendre ces troubles de mémoire, donc, on conclue que la dose de 400ppm utilisée dans cette étude se considère comme une dose forte durant une exposition qui était réduite pour cette raison elle n'entraîne pas des troubles de mémoire, de même **Lai et al. (2017)** suggèrent que l'Acry exerce des effets toxiques dose-dépendantes sur le développement des neurones hippocampiques chez des rats sevrés.

➤ **L'Acry génère des lésions élémentaires au niveau neuronal (aspect microscopique):**

D'un point de vue neuroanatomie, les lésions élémentaires sont représentées par des altérations morphologiques au niveau cellulaire, des organites ou des constituants moléculaires décelables en microscopie photonique pour les études histologiques.

Dans les résultats obtenus, les neurones ont été particulièrement vulnérables aux agressions dotées à l'Acry y compris : des congestions, des nécroses, des vacuoles, des spongieuses, à cet égard, on établit un lien étroit entre la neurotoxicité d'Acry et les mécanismes physiopathologiques de ces lésions.

Les congestions ou l'extravasation des capillaires ont été observées dans nôtres sections cérébrales et cérébelleuses, les travaux de (**Takahashi et al., 2008 ; Abd El-Mottaleb et Rashed, 2008 ; El Mehi et al., 2015 ; Zamani et al., 2017 ; Ahrari Roodi et al., 2018 ; Karimani et al., 2019**) ont déjà signalé ces lésions dans nombreux types tissulaires (gastriques, hépatiques, rénales, neuronales, testiculaires, spléniques...etc) chez les animaux traités par l'Acry.

Selon les résultats de **Ahrari Roodi et al. (2018)**, l'Acry génère des hémorragies qui pourrait être une conséquence d'une réaction inflammatoire (**El Mehi et al., 2015**), simultanément les travaux de (**Kim,2005 ; Lyn-Cook et al., 2011; Wei et al., 2014 ; Marković et al., 2017**) confirment que l'Acry perturbe la signalisation NO, il amplifie l'expression de l'enzyme oxyde nitrique synthase inductible (iNOS) dans différents tissus qui aboutit à une production accru de NO et puisque le NO est vasodilatateur donc il génère une réaction inflammatoire (**Ahmed et Abdella, 2010 ; El Mehi et al., 2015 ; Dasari et al., 2018**), de même l'étude de **Zong et al. (2019)** montre que l'Acry

induit une neuro-inflammation au niveau du cortex cérébral qui était évidente par la surexpression des cytokines pro-inflammatoires par la médiation de la voie d'inflammasome NLRP3 ainsi une activation des microglies, à cet égard, on suggère que ces congestions peuvent refléter une diapédèse des médiateurs inflammatoires et une vasodilatation médiée par l'Acry.

L'œdème cellulaire est une accumulation d'eau dans le cytoplasme des cellules par l'altération du gradient osmotique suite à un drainage de liquide dans l'espace intracellulaire (**Tourdias, 2011**), par l'analyse microscopique, ces lésions sont représentées sous la forme de vacuoles des différentes tailles et des spongioses.

Les observations microscopiques de nos sections du parenchyme cérébral montrent que l'Acry génère un œdème cytotoxique, les travaux de (**Shrivastava et al., 2017 ; Şekeroglu et al., 2017**) élucident la capacité d'Acry à former des adduits d'hémoglobine entraînant une déficience dans le transport d'oxygène (une hypoxie) (**El-Sayyad et al., 2010 ; El Mehi et al., 2015**), parmi les tissus susceptibles d'être endommager irréversiblement par cette hypoxie c'est le système nerveux (**Mansour et al., 2017; Goljan, 2019**), cette faible oxygénation au niveau intracellulaire va atténuer la production de l'ATP affectant par la suite la pompe sodium-potassium (ATP dépendante), ce qui favorise un afflux de sodium et des transferts de liquide osmotique au niveau intracellulaire (**Schettgen et al., 2004 ; Tourdias, 2011; Goljan, 2019**), ceci est considérée comme l'un des mécanismes qu'on peut expliquer l'apparition de l'œdème intracellulaire sous forme des vacuoles et des spongioses.

Dans autre étude, des vacuolisations cytoplasmiques ont été détectée aux niveaux des glandes gastriques chez les rongeurs exposés oralement à cet agent et selon **El Mehi et al. (2015)** cela était due aux troubles dans la perméabilité membranaire due à la génération des ROS, les travaux de **Shinomol et al. (2013)**, **Mehri et al. (2015)**, **Santhanasabapathy et al. (2015)**, **Batoryna et al. (2017)** **Erdemli et al. (2017)** confirment la capacité d'Acry a induit un stress oxydatif, et par conséquence le changement de la perméabilité membranaire par les ROS est couplé avec un transport accru de l'eau et des électrolytes intracellulaire perturbant l'homéostasie cellulaire (génération de l'œdème cytotoxique) (**Goljan, 2019**), ceci a été considéré comme autre mécanisme afin d'expliquer l'œdème cytotoxique observé dans l'étude histopatologique.

Les nécroses désignent des modifications morphologiques irréversibles touchant aussi bien les noyaux, les cytoplasmes et observables suite à une dénaturation protéique et la digestion des organites par les enzymes lytiques, l'un de ces formes : la caryorrhixise (fragmentation de la masse nucléaire), histopathologiquement ces lésions ont plusieurs mécanismes biochimiques inductifs (**CoPath, 2012**).

Dans notre étude, l'Acry était le facteur déclenchant de cette cytopathologie au niveau des cellules pyramidales et granuleuses, ceci était confirmé par (**Mehri et al., 2015**), bien que les mécanismes proposés expliquant cette cytopathologie restent méconnus, on suggère l'implication des mécanismes suivants :

- ❖ La diminution de la synthèse de l'ATP (issus de l'hypoxie) réduit la fonction de la pompe de calcium (Ca^{2+}) ATPase qui a un rôle cruciale dans l'expulsion de Ca^{2+} soit dans les réservoirs calciques (mitochondrie, réticulum endoplasmique...) ou bien vers le milieu extracellulaire, cette perturbation va augmenter le taux de Ca^{2+} cytoplasmique ce qui active les enzyme (des endonucléase) responsable de fragmentation du noyau (Caryorrhixise) (**Goljan, 2019**), pareillement cette mobilisation de Ca^{+2} vers le milieu cytosolique pourrait être également médiée par le stress oxydatif via la production des ROS (**Shinomol et al., 2013 ; Mehri et al., 2015 ; Santhanasabapathy et al., 2015 ; Batoryna et al., 2017 Erdemli et al., 2017 ; Mansour et al., 2017**) qui est responsable de la perturbation de la perméabilité membranaire (**Raju et al., 2011 ; Mohi et al., 2016 ; Goljan, 2019**).

Les lésions cérébelleuses dans notre sections histologiques confirment microscopiquement l'atteinte de motricité qu'on a observé chez les animaux intoxiqué et indiquent que l'Acry altère la couche des cellules de Purkinje ainsi de la couche granuleuse, à la fois les travaux de **Beiswanger et al. (1993)**, **Al-Sayyad et al. (2011)** et de **Tian et al. (2015)** affirment ces observations.

Cavanagh et Nolan (1982) et **Imam et Gadallah (2018)** ont concluent que l'Acry est responsable de la dégénérescence des cellules de Purkinje, selon **He et al. (2002)** ; **Tian et al. (2015)** l'Acry réduit les réserves énergétiques en ATP aux niveaux cérébral et cérébelleux, il diminue le taux de glutamate et augmente la production de GABA par une surexpression d'une enzyme GAD65 impliquée dans sa synthèse cela va affaiblir la recapture du GABA au niveau du cervelet en induisant une surstimulation des neurones

gabaergiques (cellules de Purkinje) (**Burguiere, 2006**) et par la suite leurs dégénérescences.

Cependant, **Mehri et al. (2015)** et **Dasari et al. (2018b)** justifient l'origine de ces lésions au pouvoir oxydant de l'Acry par la génération des ROS et la susceptibilité de système nerveux d'être altéré par ces radicaux libres due à sa faible teneur en enzymes antioxydant, de plus **Beiswanger et al. (1993)** dénoncent que le taux en GSH au niveau neuronal est diminué comparativement aux tissus hépatiques ainsi que sa régénérescence est plus rapide au niveau du foie, alors qu'**Imam et Gadallah (2018)** constatent que l'Acry entrave la prolifération de la couche granuleuse, la migration et la différenciation de ces cellules qui peut être expliquée par l'altération au niveau de cytosquelette, l'induction du stress oxydatif et un dysfonctionnement.

➤ **L'Acry et les modifications des paramètres biochimiques :**

Les paramètres biochimiques sont des marqueurs sensibles aux changements induits par les xénobiotiques, ils permettent d'évaluer l'effet toxique d'un agent sur les fonctions physiologiques de l'organisme, afin d'approfondir l'impact de l'Acry sur les paramètres biochimiques, nous avons procédé au dosage de la glycémie, le cholestérol total, les triglycérides, la créatinine et l'urée.

Les résultats obtenus montrent que l'Acry augmente les concentrations plasmatiques de glucose, ces résultats concordent avec ceux de (**Lin et al., 2009 ; Rawi et al., 2012 ; Ghorbel et al., 2017 ; Rivadeneyra-Dominguez et al., 2018**) qui ont attribué cette augmentation à une diminution de l'insuline ou de l'insulino-résistance et **Stošić et al. (2018)** expliquent cette perturbation par la **diminution** du nombre des cellules bêta pancréatiques et une augmentation du nombre de cellules alpha causée par l'Acry, pourtant **Kovac et al. (2015)** établissent une corrélation proportionnelle entre le taux de glucose sanguin et le catabolisme des réserves en glycogène au niveau du foie du fait que ce xénobiotique détériore préalablement les tissus hépatiques (lieu de la détoxification d'Acry).

Les lipides sont connus pour leur rôle structural déterminant dans la constitution des membranes biologiques (phospholipides et cholestérol) et leur rôle fondamental dans le stockage de l'énergie sous forme de triglycérides, les altérations morphologiques peuvent s'exprimer par une perturbation de la métabolisation

lipidique, pour ce dosage nous avons révélé une augmentation de la cholestérol et une diminution de triglycéride, ceci a été corroborer avec les résultats de (**Rawi et al., 2012 ; Mahmood et al., 2016 ; Ghorbel et al., 2017 ; El-Kholy et al., 2018 ; Belhadj, 2018**) qui ont expliqué cette augmentation par une baisse du taux de HDL ou d'une augmentation de la synthèse des acides gras au niveau du foie, reflétant un dysfonctionnement hépatique (**Rawi et al., 2012**), en plus il est bien établi que l'Acry cause des lésions hépatiques à travers la génération des ROS qui conduit à une altération de l'intégrité et de la fluidité des membranes cellulaires (**Ghorbel et al., 2017 ; EL-Kholy et al., 2018**) aboutissant à une mobilisation accrue des lipides contenues dans le foie (**Mahmood et al., 2016**), ces ROS peuvent aussi inhiber la recapture et le stockage des triacylglycérols plasmatiques au niveau cellulaire suite à une oxydation de récepteur d'insuline par le bas du mécanisme insulino-résistance ceci va conduire à une accumulation des lipides au niveau plasmatique et cellulaire (**Qusti et Al-Qahtani, 2015**) et qui va traduire par une augmentation des taux de cholestérol total.

La diminution de la concentration plasmatique de triglycérides qu'on avait remarquée est expliquée selon **Rawi et al. (2012)** et **Allam et al. (2009)** par une diminution de la synthèse de lipoprotéines plasmatiques suite à une atteinte hépatique, qui s'effectue au niveau du réticulum endoplasmique des microsomes hépatiques.

La créatinine et l'urée constituent des excellents marqueurs de la fonction rénale, leurs augmentations ou leurs diminutions reflètent un dysfonctionnement (**Baba Ahmed et al., 2010**). Dans notre travail, les résultats concernant l'effet de l'Acry sur la créatinine ont permis de mettre en évidence un taux élevé de la créatinine chez les souris intoxiquées par rapport aux contrôles. Nos résultats sont en accord avec (**Soliman, 2013 ; Erdemli et al., 2018 ; Rivadeneyra-Dominguez et al., 2018**) mais en désaccord avec **Mahmood et al. (2015)**, cette élévation de la créatinine pourrait être une conséquence d'une insuffisance rénale, cela explique que l'Acry provoque des lésions (**Rawi et al., 2012 ; Erdemli et al., 2018**), où **Raju et al. (2015)** indiquent que l'atteinte rénale entraîne une réduction de la clairance rénale de la créatinine, par contre, aucune variation n'était observée pour le taux plasmatique d'urée donc on estime que cette révélation non significative est probablement liée à durée d'exposition (aigu) pourtant les travaux de (**Soliman, 2013 ; Khalifa et al., 2016 ; Erdemli et al., 2018 ; Rivadeneyra-Dominguez et al., 2018**) signalent son élévation.

Conclusion générale

Conclusion :

La présente étude montre clairement que l'administration orale de l'acrylamide durant la période de développement chez les souris *Mus musculus* a induit des changements à des différents profils.

D'après les résultats obtenus, nous pouvons conclure que l'exposition à l'acrylamide durant cette période était responsable d'un retard de croissance chez la progéniture voire une mortalité et à l'apparition des atteintes de motricité jusqu'à la paralysie (chez les femelles gestantes et allaitantes) ces atteintes ont été marquées même chez les souris sevrées, outre de sa toxicité développementale son pouvoir neurotoxique a été décelé par l'étude neurocomportementale et histologique, des troubles métaboliques sont associée aux perturbations des paramètres biochimiques, à cet égard on résume ces points comme ceci:

L'étude physiologique : montre que l'acrylamide induit un déficit pondéral avec une diminution des poids de cerveaux.

L'étude neurocomportementale : nous permet de déduire que l'administration orale de ce xénobiotique se manifeste par une atteinte de motricité (paralysie des membres postérieurs et l'incoordination), une anxiété, une réduction de l'exploration due à sa neurotoxicité à savoir l'axonopathie, la perturbation dans la transmission nerveuse et l'induction du stress oxydatif.

L'étude biochimique : prouve que l'acrylamide induit une hyperglycémie, hypercholestérolémie, hypercréatinémie et une réduction du taux des triglycérides au niveau sanguin lié à des déficiences hépatique et rénal.

L'étude anatomopathologique : atteste que le pouvoir neurotoxique de l'acrylamide a été décelé à travers sa cytotoxicité, en effet nos résultats illustrent l'apparition des lésions élémentaires à savoir les congestions, les nécroses, les spongioses, des vacuolisations au niveau du parenchyme cérébral tandis que des dégénérescences des cellules de Purkinje des altérations de la couche granuleuse au niveau cérébelleux.

A la lumière de ces résultats trouvées et pour approfondir plus cette étude notre travail pourra être complété par des approches moléculaires afin de mettre en évidence le mécanisme responsable de la neurotoxicité développementale et de l'axonopathie

d'acrylamide, aussi il serait envisageable d'entreprendre un protocole expérimental pour mettre en évidence une exposition chronique par cet agent, de même il serait nécessaire de réaliser des études *in vitro* et *in vivo* pour des fins comparatives en essayeront de trouver les interactions cibles de ce xénobiotique.

Il serait également intéressant d'étudier les effets de l'Acry sur le comportement émotionnel (dépression, anxiété) et établir un lien étroit entre ces perturbations comportementales et les interactions d'Acry avec le système de neurotransmission.

Références
bibliographiques

A

- Abd El-Mottaleb, E. M., & Rashed, A. Y.** (2008). Some Studies on Acrylamide Intoxication in Male Albino Rats. *Egypt. J. Comp. Path. & Clinic. Path*, 21(4): 222–245.
- Abdul-Hamid, M., Allam, A., Hussein, MB.** (2007). Effect of ethanol administration during gestation the cerebral cortex and spinal cord of albino rat newborns and on the development of their sensorimotor reflexes. *Egypt. J. Zool*, 48: 137–162.
- Abou zaid, O. M., EL-Sonbaty, S. M., & Barakat, W. E.** (2017). Effect of Acrylamide on neurotransmitters and acetyl-cholinestrace activity in the brain of rats: Therapeutic effect of ferulic acid and selenium nanoparticles. *Annals of British Medical Sciences*, 3(1): 18–25.
- Adams, A., Hamdani, S., Lancker, F. V., Méjri, S., & De Kimpe, N.** (2010). Stability of acrylamide in model systems and its reactivity with selected nucleophiles. *Food Research International*, 43: 1517–1522.
- Adlard, B. P. F., & Dobbing, J.** (1971). Vulnerability of developing brain. Ili. Development of four enzymes in the brains of normal and undernourished rats. *Brain Research*, 28: 97–107.
- AFSSA.** (2005). ACRYLAMIDE : Point d'information N°3. Maisons-Alfort, France.
- Agrawal, A. K., & Squibb, R. E.** (1981). Effects of acrylamide given during gestation on dopamine Receptor binding in rat pups. *Toxicology Letters*, 7: 233–238.
- Ahmed, F. Z., Merzouk, H., Bouanane, S., Benkalfat, N. B., Merzouk, S. A., Mulengi, J. K., & Narce, M.** (2010). Évaluation de la toxicité aiguë de la 2-hydroxy-méthyl-1 (N-phtaloyltryptophyl) aziridine chez le rat Wistar. *Ann Toxicol Anal*, 22(3): 115–121.
- Ahrari Roodi, P., Moosavi, Z., Afkhami Goli, A., Azizzadeh, M., & Hosseinzadeh, H.** (2018). Histopathological Study of Protective Effects of Honey on Subacute Toxicity of Acrylamide-Induced Tissue Lesions in Rats' Brain and Liver. *Iranian Journal of Toxicology*, 12(3):1–8.
- Al-Abiad S.A.,** (2012). The effect of acrylamide on some physiological and Biochemical parameters of Albino rats. Thèse de doctorat: Zoology. Cairo University.
- Al-Gholam, M. A., Nooh, H. Z., El-Mehi, A. E., El-Barbary, A. E. L. M., & Fokar, A. Z.** (2016). Protective effect of rosemary on acrylamide motor neurotoxicity in spinal cord of rat offspring: postnatal follow-up study. *Anat Cell Biol*, 49(1): 34–49.
- Ali, S. F.** (1983). Acrylamide-induced changes in the monoamines and their acid metabolites in different regions of the rat brain. *Toxicol. Lett*, 17(1-2): 101–105.

- ALKarim, S.,** ElAssouli, S., Ali, S., Ayuob, N., & ElAssouli, Z. (2015). Effects of low dose acrylamide on the rat reproductive organs structure, fertility and gene integrity. *Asian Pacific Journal of Reproduction, 4*(3): 179–187.
- Allam, A.,** El-Ghareeb, A. W., Abdul-Hamid, M., El Bakery, A., Gad, M., & Sabri, M. (2010). Effect of prenatal and perinatal acrylamide on the biochemical and morphological changes in liver of developing albino rat. *Arch Toxicol, 84*: 129–141.
- Allam, A.,** El-Ghareeb, A. A., Abdul-Hamid, M., Baikry, A., & Sabri, M. I. (2011). Prenatal and perinatal acrylamide disrupts the development of cerebellum in rat: Biochemical and morphological studies. *Toxicology and Industrial Health, 27*(4): 291–306.
- Allam, A.,** El-Gareeb, A., Ajarem, J., Abdul-Hamid, M., & El-Bakry, A. (2013). Effect of acrylamide on the development of medulla oblongata in albino rat: Biochemical and morphological studies. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 7*(20): 1320–1331.
- Alrethaia, A. S.** (2019). Toxicological Effects of Fried Potato Chips Supplementation on Young Rats. *EC Nutrition, 14.4*: 386–394.
- ANSES.** (2011). Valeurs limites d'exposition en milieu professionnel: Évaluation des effets sur la santé et des méthodes de mesure des niveaux d'exposition sur le lieu de travail pour l'acrylamide. Rapport d'expertise collective, Maisons-Alfort, France: Édition scientifique.
- ANSES.** (2017). Valeurs limites d'exposition en milieu professionnel: Evaluation des indicateurs biologiques d'exposition et recommandation de valeurs biologiques de référence pour l'acrylamide, Rapport d'expertise collective. Maisons-Alfort, France: Édition scientifique.
- Aras, D.,** Cakar, Z., Ozkavukcu, S., Can, A., & Cinar, O. (2017). In Vivo acrylamide exposure may cause severe toxicity to mouse oocytes through its metabolite glycidamide. *Plos One, 12*(2): 1–11.
- Arihan, O.,** Seringec, N. B., Gürel, E. I., & Dikmenoglu, N. H. (2010). Effects of oral acrylamide intake on blood 1 viscosity parameters in rats. *Clinical Hemorheology and Microcirculation, 46*: 1–8.
- ATC.** (2002). ACRYLAMIDE, Fiche Toxicologique Chimique (2). Récupéré sur <http://atctoxicologie.ifrance.com>.
- ATSDR.** (2012). Acrylamide, Division of Toxicology and Human Health Sciences n 79-06-1. Récupéré sur www.atsdr.cdc.gov.

Attar, A., Liu, T., Coco Chan, W. T., Hayes, J., Nejad, M., & Lei, K. (2013). A Shortened Barnes Maze Protocol Reveals Memory Deficits at 4-Months of Age in the Triple-Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. *PLoS One*: 8(11).

Attoff, K. (2019). Cell models for evaluation of adult and developmental neurotoxicity. Thèse de doctorat: Molecular Neurobiology. Stockholm University; p 77.

Attoff, K., Kertika, D., Lundqvist, J., Oredsson, S., & Forsby, A. (2016). Acrylamide affects proliferation and differentiation of the neural progenitor cell line C17.2 and the neuroblastoma cell line SH-SY5Y. *Toxicol in Vitro*, 35: 100–111.

B

Bandarra, S., Fernandes, A. S., Magro, I., Guerreiro, P. S., Pingarilho, M., Churchwell, M. I., & Gil, O. M. (2013). Mechanistic insights into the cytotoxicity and genotoxicity induced by glycidamide in human mammary cells. *Mutagenesis*, 28(6):721–729.

Barber D. S., Hunt, J. R., Ehrich, M. F., Lehning, E. J., & LoPachin, R. M. (2001). Metabolism, toxicokinetics and hemoglobin adduct formation in rats following subacute and subchronic acrylamide dosing. *Neurotoxicology*, 22(3) : 341–353.

Batoryna, M., Lis, M., & Formicki, G. (2017). Acrylamide-induced disturbance of the redox balance in the chick embryonic brain. *J Environ Sci Health B*, 52(8), 600–606.

Baum, M., Fauth, E., Fritzen, S., Herrmann, A., Mertes, P., Merz, K., et al. (2005). Acrylamide and glycidamide: genotoxic effects in V79-cells and human blood. *Mutat Res*, 580(1-2):61–69.

Béatrice, B., De Bergeyck, V., De Rouvroit, C. L., Royaux, I., & Goffinet, A. M. (1998). Reelin et développement cérébral : état de la question depuis le clonage du gène. *médecine/sciences*, 14 : 637–643.

Beiswanger, C. M., Mandella, R. D., Graessle, T. R., Reuhl, K. R., & Lowndes, H. E. (1993). Synergistic Neurotoxic Effects of Styrene Oxide and Acrylamide: Glutathione-Independent Necrosis of Cerebellar Granule Cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 118(2): 233–244.

Beland, F. A., Olson, G. R., Mendoza, M., Marques, M. M., & Doerge, D. R. (2015). Carcinogenicity of glycidamide in B6C3F1 mice and F344/N rats from a two-year drinking water exposure. *Food and Chemical Toxicology*, 86:104–115.

Belhadj B.A. (2018). Dosage de l'acrylamide dans quelques produits alimentaires et son effet sur les paramètres biochimiques et statut immunochimique des rats Wistar. Thèse de Doctorat : Sciences biologiques. Université Djilali Liabes faculté des sciences de la nature et de la vie sidi bel Abbas ; p 113.

- Belzung, C.,** Misslin, R., & Vogel, E. (1989). Behavioural effects of the benzodiazepine receptor partial agonist RO 16-6028 in mice. *Psychopharmacology*, 97: 388–391.
- Bergmark, E.** (1997). Hemoglobin Adducts of Acrylamide and Acrylonitrile in Laboratory Workers, Smokers and Nonsmokers. *Chem. Res. Toxicol*, 10: 78–84.
- Bergmark, E.,** Calleman, C. J., He, F., & Costa, L. G. (1993). Determination of hemoglobin adducts in humans occupationally exposed to acrylamide. *Toxicol Appl Pharmacol*, 120(1): 45–54.
- Besaratini, A.,** & Pfeifer, G. P. (2007). A review of mechanisms of acrylamide carcinogenicity. *Carcinogenesis*, 28(3): 519–528.
- Besaratinia, A.,** & Pfeifer, G. P. (2003). Weak yet Distinct Mutagenicity of Acrylamide in Mammalian Cells. *Journal of the National Cancer Institute*, 95(12): 889–896.
- Besaratinia, A.,** & Pfeifer, G. P. (2004). Genotoxicity of Acrylamide and Glycidamide. *Journal of the National Cancer Institute*, 96(13): 1023–1029.
- Biedermann, M.,** Biedermann-Brem, S., Noti, A., Grob, K., Egli, P., & Mandli, H. (2002a). Two GC-MS methods for the analysis of acrylamide in foods. *Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchungund Hygiene*, 93: 638–652.
- Boettcher, M. I.,** & Angerer, J. (2005). Determination of the major Mercapturic acids of acrylamide and glycidamide in human urine by LC–ESI-MS/MS. *Journal of Chromatography B*, 824:283–294.
- Boettcher, M. I.,** Schettgen, T., Köutting, B., Pischetsrieder, M., & Angerer, J. (2005). Mercapturic acids of acrylamide and glycidamide as biomarkers of the internal exposure to acrylamide in the general population. *Mutation Research*, 580: 167–176.
- Bolt, H. M.** (2003). Genotoxicity--threshold or not? Introduction of cases of industrial chemicals. *Toxicol Lett*, 140(141): 43 –51.
- Bordini, E.,** Hamdan, M., & Righetti, P. G. (2000). Probing acrylamide alkylation sites in cysteine-free proteins by matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 14(10): 840–848.
- Bouras B.,** (2013). Nouveaux copolymères poly (acrylamide-Co-4-vinylpyridine)-propriétés et applications. Thèse de Doctorat : Chimie. Université Abou–Bakr Belkaid –Tlemcen; p 171.
- Brisson, B.,** Ayotte, P., Normandin, L., Gaudreau, É., Bienvenu, J. F., & Fennell, T. R., et al. (2014). Relation between dietary acrylamide exposure and biomarkers of internal dose in Canadian teenagers. *J Expo Sci Environ Epidemiol*, 24(2): 215–221.

Brisson-Gauthier B., (2012). Relation entre l'exposition à l'acrylamide par l'alimentation, les marqueurs de dose interne et les cassures a l'ADN lymphocytaire chez des adolescents montréalais. Mémoire: médecine expérimentale. University Laval; p 65.

Bull, R.J., Robinson, M., & Stober, J.A. (1984b) Carcinogenic activity of acrylamide in the skin and lung of Swiss-ICR mice. *Cancer Lett*, 24:209–212.

C

Calleman, C. J., Bergmark, E., & Costa, L. G. (1990). Acrylamide is metabolized to Glycidamide in the rat: evidence from hemoglobin adducts formation. *Chem. Res. Toxicol.* 3: 406–412.

Calleman, C. J., Wu, Y., He, F., Tian, G., Bergmark, E., Zhang, S., et al. (1994). Relationships between biomarkers of exposure and neurological effects in a group of workers exposed to acrylamide. *Toxicol Appl Pharmacol*, 126(2): 361–371.

Calleman C.J. The metabolism and pharmacokinetics of acrylamide: implications for mechanisms of toxicity and human risk estimation. *Drug metabolism reviews*, 1996; 28(4): 527-590.

Camacho, L., Latendresse, J. R., Muskhelishvili, L., Patton, R., Bowyer, J. F., Thomas, M., et al. (2012). Effects of acrylamide exposure on serum hormones, gene expression, cell proliferation, and histopathology in male reproductive tissues of Fischer 344 rats. *Toxicology Letters*, 211: 135–143.

Carrara E., (2018). Toxicité de L'acrylamide : Les lactobacilles, Possible Rôle Protecteur. Thèse de doctorat: Pharmacie. Université de Lille; p 89.

Carter, R. J., Morton, J., & Dunnett, S. B. (2001). Motor coordination and balance in rodents. *Curr Protoc Neurosci*, 8: 8–12.

CAST: council for agricultural science and technology. (2006). Acrylamide in food, 32.

Chapin, R. E., Fail, P. A., George, J. D., Grizzle, T. B., Heindel, J. J., HarrY, G. J., et al. (1995). The Reproductive and Neural Toxicities of Acrylamide and Three Analogues in Swiss Mice, Evaluated Using the Continuous Breeding Protocol. *Fundamental and Appued Toxicology*, 27: 9–24.

- Cavanagh, J. B.,** & Nolan, C. C. (1982). Selective loss of Purkinje cells from the rat cerebellum caused by acrylamide and the responses of beta-glucuronidase and beta-galactosidase. *Acta Neuropathol*, 58(2): 210–214.
- Chen, W.,** Su, H., Xu, Y., Bao, T., & Zheng, X. (2016). Protective effect of wild raspberry (*Rubus hirsutus* Thunb.) extract against acrylamide-induced oxidative damage is potentiated after simulated gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 196 : 943–952.
- Cheriot, S.** (2008). Rôle des produits de la réaction de Maillard dans l'inhibition de l'oxydation enzymatique des phénols et des lipides. Thèse de doctorat: Sciences de l'aliment, Agro Paris Tech; p 241.
- Chevolleau, S.,** Jacques, C., Canlet, C., Tulliez, J., & Debrauwer, L. (2007). Analysis of hemoglobin adducts of acrylamide and glycidamide by liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry, as exposure biomarkers in French population. *Journal of Chromatography A*, 1167: 125–134.
- Christova-Bagdassarian, V. L.,** Tishkova, J. A., & Vrabcheva, T. M. (2012). Acrylamide in Processed Foods. *Bulgarian Journal of Chemistry*, 1: 123–132.
- Ciesarová, Z.,** Balasová, V., Kiss, E., Kolek, E., Šimko, P., & Kováč, M. (2004). Comparison of Two Methods for Acrylamide Determination and Dietary Intake of Acrylamide from Potato Crisps in Slovakia. *Czech J. Food Sci*, 22: 251–254.
- Cladière, M.,** & Camel, V. (2017). Réaction de Maillard et sécurité des aliments : focus sur l'acrylamide. *Environ Risque Sante*, 16(1): 31–43.
- Collins, J. J.,** Swaen, G. M., Marsh, G. M., Utidjian, H. M., Caporossi, J. C., & Lucas, L. J. (1989). Mortality patterns among workers exposed to acrylamide. *J Occup Med.*, 31(7): 614–617.
- CoPath.** (2012). Moyens et objectifs de l'anatomie pathologique en médecine. Collège Français des Pathologistes.
- Crawley, J.N.,** & Goodwin, F.K. (1980). Preliminary report of a simple animal behaviour for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmac. Biochem. Behav.* 13: 167–170.
- ## D
- Dankwah R.,** (2014). Acrylamide resulting from heat-time treatment in pigeon pea, a neglected and underutilized legume. Mémoire: Biochemistry. Kwame Nkrumah University of Science and Technology; p 78.

- Dasari, S.,** Ganjayi, M. S., & Meriga, B. (2018a). Glutathione S-transferase is a good biomarker in acrylamide induced neurotoxicity and genotoxicity. *Interdiscip Toxicol*, 11(2): 115–121.
- Dasari, S.,** Ganjayi, M. S., Gonuguntla, S., Ramineedu, K., Konda, P. Y., & Meriga, B. (2018b). Assessment of biomarkers in acrylamide-induced neurotoxicity and brain histopathology in rat. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 6(06): 79–86.
- Dearfield, K. L.,** Abernathy, C.O., Ottley, M. S., Brantner, J. H., & Hayes, P. F. (1988). Acrylamide: its metabolism, developmental and reproductive effects, genotoxicity, and carcinogenicity. *Mutation Research*, 195: 45–77.
- Dixit, R.,** Mukhtar, H., Seth, P.K., & Krishna Murti, C.R. (1980). Binding of acrylamide with glutathione-S-transferase. *Chem. Boil. Interact*, 32: 353–360.
- Dixit, R.,** Husain, R., Mukhtar, H., & Seth, P.K. (1981). Effect of acrylamide on biogenic amine levels, monoamine oxidase, and cathepsin D activity of rat brain. *Environ. Res*, 26: 163–173.
- Djellouli, M.M.** (2018). Production et caractérisation de peptides bioactifs issus de l'hydrolyse des protéines alimentaires par les protéases des bactéries lactiques. cas de protéines de coproduits marins. Thèse de doctorat: Biotechnologie. Université D'ORAN 1 AHMED BEN BELL; p163.
- Dobrowolski, P.,** Huet, P., Karlsson, P., Eriksson, S., Tomaszewska, E., Gawron, A., et al. (2012). Potato fiber protects the small intestinal wall against the toxic influence of acrylamide. *Nutrition*, 28: 428–435.
- Doerge, D. R.,** Young, J. F., Patrice McDaniel, L., Twaddle, N. C., & Churchwell, M. I. (2005a). Toxicokinetics of acrylamide and glycidamide in B6C3F1 mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 202: 258–267.
- Doerge, D. R.,** Da Costa, G. G., Patrice McDaniel, L., Churchwell, M. I., Twaddle, N. C., & Beland, F. A. (2005b). DNA adducts derived from administration of acrylamide and glycidamide to mice and rats. *Mutation Research*, 580: 131–141.
- Dortaj, H.,** Anvari, M., Yadegari, M., Sharifabad, M. H., & Sarcheshmeh, A. A. (2017). Stereological Survey of the Effect of Vitamin C on Neonatal Rat Kidney Tissue Treated With Acrylamide. *Modern Medical Laboratory Journal*, 1(2): 42–49.
- Duan, X.,** Wang, Q. C., Chen, K. L., Zhu, C. C., Liu, J., & Sun, S. C. (2015). Acrylamide toxic effects on mouse oocyte quality and fertility in vivo. *Scientific Reports*, 5:11562.
- Dybing, E.,** Farmer, P. B., Andersen, M., Fennell, T.R., Lalljie, S.P., Müller, D.J., et al. (2005). Human exposure and internal dose assessments of acrylamide in food. *Food and Chemical Toxicology*, 43: 365–410.

E

Edwards, P.M. (1976). The insensitivity of the developing rat fetus to the toxic effects of acrylamide. *Chemico-Biological Interactions*, 12:13–18.

EFSA. (2015). Scientific Opinion on acrylamide in food. *EFSA Journal*, 13(6), 4104.

El-Bakry, A. M., Abdul-Hamid, M., & Allam, A. (2013). Prenatal and perinatal exposure of acrylamide disrupts the development of spinal cord in rats. *World Journal of Neuroscience*, 3: 17–31.

El-Bohi, K. M., Moustafa, G. G., El sharkawi, N. I., & Sabik, M. E. (2011). Genotoxic Effects of Acrylamide in Adult Male Albino Rats Liver. *Journal of American Science*, 7(1):1097–1108.

El-Kholy, T. A., Khalifa, N. A., Alghamidi, A. K., and Badereldin, A. M. (2012). A Trail of Using Green Tea for Competing Toxicity of Acrylamide on Liver Function. *Life Science Journal*, 9(4): 3690–3695.

EL-Kholy, W. M., EL-Sawi, M., & Galal, N. A. (2018). Effect of Myrtus Communis Extract against Hepatotoxicity Induced by Monosodium Glutamate and Acrylamide in Male Rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 70(9): 1676–1681.

El-Mehi, A. E., & El-Sherif, N. M. (2015). Influence of acrylamide on the gastric mucosa of adult albino rats and the possible protective role of rosemary. *Tissue and Cell*, 47: 273–283.

El-Sayyad, H. I., El-Gammal, H. L., Habak, L. A., Abdel-Galil, H. M., Fernando, A., Gaur, R. L., & Ouhtit, A. (2011). Structural and ultrastructural evidence of neurotoxic effects of fried potato chips on rat postnatal development. *Nutrition*, 27:1066–1075.

El-Sayyad, H. I., A Khalifa, S., Fahmy, A. E., El-Shahary, E. A., & Ibrahim, M. A. (2017). Abnormal Soft Palate, Lingual Mucosa and Intestine of Neonates Maternally Fed on Diet Containing Fried Potatoes Chips or Received Acrylamide-Treatment. *Journal of Pharmacological Reports*, 2(3): 1–7.

EL-Yamany, NA., & Bayomy, AA. (2007). Vitamin E alleviates the disturbances in monoamine levels in different brain regions of acrylamide-intoxicated rats. *Egypt. J. Zool.*, 48: 93–111.

Erdemli, M. E., Doğan, Z., Çiğremiş, Y., Akgöz, M., Altinöz, E., Geçer, M., et al. (2015). Amelioration of subchronic acrylamide toxicity in large intestine of rats by organic dried apricot intake. *Turkish Journal of Biology*, 39: 872–878.

Erdemli, M. E., Turkoz, Y., Altinoz, E., Elibol, E., & Dogan, Z. (2016). Investigation of the effects of acrylamide applied during pregnancy on fetal brain development in rats and protective role of the vitamin E. *Human and Experimental Toxicology*, 35(12): 1337–1344.

Erdemli, M. E., Altinoz, E., Aksungur, Z., Turkoz, Y., Dogan, Z., & Gozukara Bag, H. (2017). Biochemical investigation of the toxic effects of acrylamide administration during pregnancy on the liver of mother and fetus and the protective role of vitamin E. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 30(7): 844–848.

Erdemli, M. E., Arif Aladag, M., Altinoz, E., Demirtas, S., Turkoz, Y., Yigitcan, B., et al. (2018a). Acrylamide applied during pregnancy causes the neurotoxic effect by lowering BDNF levels in the fetal brain. *Neurotoxicol Teratol*, 67: 37–43.

Erdemli, M. E., Aksungur, Z., Gul, M., Yigitcan, B., Bag, H. G., Altinoz, E., et al. (2018b). The effects of acrylamide and vitamin E on kidneys in pregnancy: an experimental study. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 32(22): 3747–3756.

Erdemli, Z., Erdemli, M. E., Turkoz, Y., Gul, M., Yigitcan, B., & Gozukara Bag, H. (2019). The effects of acrylamide and Vitamin E administration during pregnancy on adult rats testis. *Andrologia*, 51(7): 1–7.

Erkekoglu, P., & Baydar, T. (2014). Acrylamide neurotoxicity: Review. *Nutritional Neuroscience*, 17(2): 49–57.

Eriksson, S., & Karlsson, P. (2005). Analytical Factors Affecting Levels of Acrylamide in Food. *Adv Exp Med Biol*, 561: 285–291.

Eriksson S., (2005). Acrylamide in food products: Identification, formation and analytical methodology. Thèse de doctorat: Environmental Chemistry. Stockholm University (Sweden); p83.

Eriksson, S., & Karlsson, P. (2006). Alternative extraction techniques for analysis of acrylamide in food: Influence of pH and digestive enzymes. *LWT*, 39: 392–398.

EURAR. (2002). *Acrylamide (79-06-1)*. Récupéré sur <http://europa.eu.int>

European Commission. (2002). Opinion of the Scientific Committee on Food on new findings regarding the presence of acrylamide in food.

F

FAO/WHO. (2002). Conséquences sanitaires de la présence d'acrylamide dans les denrées alimentaires. Rapport d'une consultation, Genève, Suisse.

- FAO/OMS.** (2006). Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires: comité du codex sur les additifs alimentaires et les contaminants.
- FAO/OMS.** (2011). Safety evaluation of certain contaminants in food / prepared by the Seventy-second meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA).
- Faria, M.,** Ziv, T., Gómez-Canela, C., Ben-Lulu, S., Prats, E., Novoa-Luna, K. A., et al. (2018). Acrylamide acute neurotoxicity in adult zebrafish. *Scientific Reports*, 8(7918): 1–14.
- Fennell, T. R.,** & Friedman, M. A. (2005). Comparison of acrylamide metabolism in humans and rodents. *Adv Exp Med Biol*, 561: 109–116.
- Fennell, T. R.,** Sumner, S., Snyder, R. W., Burgess, J., Spicer, R., Bridson, W. E., et al. (2005). Metabolism and Hemoglobin Adduct Formation of Acrylamide in Humans. *Toxicological Sciences*, 85: 447–459.
- Fennell, T. R.,** Sumner, S., Snyder, R. W., Burgess, J., & Friedman, M. A. (2006). Kinetics of Elimination of Urinary Metabolites of Acrylamide in Humans. *Toxicological sciences*, 93(2):256–267.
- Fournet, M.** (2016). La glycation, un mécanisme associé au diabète et au vieillissement. Thèse de doctorat: Pharmacie. Université de Limoges (France); p 146.
- Frédéric, J. T.,** Jacolot, P., & Niquet-Léridon, C. (2012). La réaction de Maillard : cent ans de découvertes scientifiques sur la chimie des aliments et la santé. Publication présentée à 10, Rouen, France.
- Frieda, S.G.,** & William, P.R. (1999). Effects of lactational administration of acrylamide on rat dams and offspring. *Rep. Toxicol*, 13: 511–520.
- Friedman, M. A.,** Dulak, L. H., & Stedham, M. A. (1995). A lifetime oncogenicity study in rats with acrylamide. *Fundam Appl Toxicol*, 27(1): 95–105.
- Friedman, M. A.,** Tyl, R. W., Marr, M. C., Myers, C. B., Gerling, F. S., & Ross, W. P. (1999). Effects of lactational administration of acrylamide on rat dams and offspring. *Reproductive Toxicology*, 13:511–520.
- Friedman, M.** (2003). Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(16): 4504–4526.
- Friedman, M.,** & Mottram, D. (2005). Chemistry and Safety of Acrylamide in Food. Springer. Boston, Etats-Unis: p 467.
- FSAI.** (2009). Acrylamide in Food, Toxicology Factsheet Series n 1. Ireland.

Fuhr, U., Boettcher, M. I., Kinzig-Schippers, M., Weyer, A., Jetter, A., Lazar, A., et al. (2006). Toxicokinetics of Acrylamide in Humans after Ingestion of a Defined Dose in a Test Meal to Improve Risk Assessment for Acrylamide Carcinogenicity. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 15(2): 266–271.

G

Gamboa da Costa, G., Churchwell, M. I., Hamilton, L. P., Von Tungeln, L. S., Beland, F.

A., Marques, M. M., et al. (2003). DNA adducts formation from acrylamide via conversion to glycidamide in adult and neonatal mice. *Chem Res Toxicol* 16: 1328–1337.

Garey, J., Ferguson, S. A., & Paule, M. G. (2005). Developmental and behavioral effects of acrylamide in Fischer 344 rats. *Neurotoxicology and Teratology*, 27: 553–563.

Garey, J., & Paule, M. G. (2007). Effects of chronic low-dose acrylamide exposure on progressive ratio performance in adolescent rats. *NeuroToxicology*, 28: 998–1002.

Garey, J., & Paule, M. G. (2010). Effects of chronic oral acrylamide exposure on incremental repeated acquisition (learning) task performance in Fischer 344 rats. *Neurotoxicology and Teratology*, 32: 220–225.

Gedik, S., Erdemli, M. E., Gul, M., Yigitcan, B., Bag, H. G., Aksungur, Z., et al. (2017). Hepatoprotective effects of crocin on biochemical and histopathological alterations following acrylamide-induced liver injury in Wistar rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 95: 764–770.

Gedik, S., Erdemli, M. E., Gul, M., Yigitcan, B., Gozukara Bag, H., Aksungur, Z., et al. (2018). Investigation of the protective effects of crocin on acrylamide induced small and large intestine damage in rats. *Biotechnic & Histochemistry*, 93(4): 267–276.

George, R.W., & Milton S.F. (1983). The Maillard Reaction in Foods and Nutrition. American Chemical Society: Washington, p 585.

Ghanayem, B. I., Patrice McDaniel, L., Churchwell, M. I., Twaddle, N. C., Snyder, R., Fennell, T. R., & Doerge, D. R. (2005). Role of CYP2E1 in the Epoxidation of Acrylamide to Glycidamide and Formation of DNA and Hemoglobin Adducts. *Toxicological sciences*, 88(2): 311–318.

Ghanayem, B. I., Bai, R., Kissling, G. E., Travlos, G., & Hoffler, U. (2010). Diet-Induced Obesity in Male Mice Is Associated with Reduced Fertility and Potentiation of Acrylamide-Induced Reproductive Toxicity. *Biology of Reproduction*, 82: 96–104.

- Ghorbel, I.,** Maktouf, S., Kallel, C., Chaabouni, S. E., Boudawara, T., & Zeghal, N. (2015). Disruption of erythrocyte antioxidant defense system, hematological 4 parameters, induction of pro-inflammatory cytokines and DNA damage 5 in liver of co-exposed rats to aluminium and acrylamide. *Chemico-Biological Interactions*, 236 : 31–40.
- Ghorbel, I.,** Elweij, A., Fendri, N., Mnif, H., Jamoussi, K., & Boudawara, T. (2016). Olive oil abrogates acrylamide induced nephrotoxicity by modulating biochemical and histological changes in rats. *Ren Fail*, 39(1): 236–245.
- Ghorbel, I.,** Elweij, A., Chaabene, M., Boudawara, O., Marrakchi, R., Jamoussi, K., Boudawara, TS., et al. (2017). Effects of acrylamide graded doses on metallothioneins I and II induction and DNA fragmentation: Biochemical and histomorphological changes in the liver of adult rats. *Toxicology and Industrial Health*, 33(8): 611–622.
- Gipon, L.,** Schotman, P., Jennekens, F. G. I., & Gispen, W. H. (1977). Polyneuropathies and CNS protein metabolism. I. Description of the acrylamide syndrome in rats. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 3: 115–123.
- Girma, K. B.,** Lorenz, V., Blaurock, S., & Edelmann, F. T. (2005). Coordination Chemistry of Acrylamide. *Coordination Chemistry Reviews*, 249: 1283–1293.
- Goerke, K.,** Ruenz, M., Lampen, A., Abraham, K., Bakuradze, T., Eisenbrand, G., & Richling, E. (2019). Biomonitoring of nutritional acrylamide intake by consumers without dietary preferences as compared to vegans. *Archives of Toxicology*, 93: 987–996.
- Gökmen V.,** (2016). Acrylamide in Food Analysis, Content and Potential Health Effects. Elsevier Science, Ankara, Turkey, 532 p.
- Goljan, E. F.** (2019). Rapid review pathology (5ème éd). Elsevier, Tulsa, Oklahoma; p 864.
- Goldstein, B. D.,** & Lowndes, H. E. (1981). Group Ia primary afferent terminal defect in cats with acrylamide neuropathy. *Neurotoxicology*, 2(2) : 297–312.
- Goudarzi, M.,** Mombeini, M. A., Fatemi, I., Aminzadeh, A., Kalantari, H., Nesari, A., et al (2019). Neuroprotective effects of Ellagic acid against acrylamide-induced neurotoxicity in rats. *Neurological Research*, 41(5):419–428.
- Gouvernement du Canada.** (2009). Approche de gestion des risques proposée pour l’acrylamide, n 79-06-1.
- Gouvernement du Québec.** (2014). Importance de l’exposition à l’acrylamide par l’alimentation chez une population potentiellement vulnérable. Québec, Canada.

Guan, Q., Su, B., Wei, X., Wang, S., Wang, M., & Liu, N. (2018). Protective effect of calpeptin on acrylamide-induced microtubule injury in sciatic nerve. *Toxicology*, 409: 103–111.

H

Habermann, C. E. (1991). Acrylamide. In J.J Kroschwitz, & M. Howe-Grant, E. Kirk Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 4th ed, New York, U.S; pp 251-266.

Hagmar, L., Törnqvist, M., Nordander, C., Rosen, I., Bruze, M., Kautiainen, A., Magnusson, A.L., Malmberg, B., Aprea, P., Granath, F., & Axmon, A. (2001). Health effects of occupational exposure to acrylamide using hemoglobin adducts as biomarkers of internal dose. *Scand J Work Environ Health*, 27(4): 219– 226.

Hall, C.S. (1934). Emotional behaviour in the Rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *J. Comp. Psychol*, 385-403.

Hall, C. S. (1938). The inheritance of emotionality. *Sigma Xi Q.* 26: 17-27.

Hammad, A. Y., Osman, M. E., & Abdelgadir, W. S. (2013). Histopathological Assessment and hematotoxicity of Dietary acrylamide on Wistar rats. *International Journal of Life Sciences*, 7(1): 21–25.

Hashimoto, K., Sakamoto, J., & Tanii, H. (1981). Neurotoxicity of Acrylamide and Related Compounds and Their Effects on Male Gonads in Mice. *Arch Toxicol*, 47: 179–189.

Holland, N., Ahlborn, T., Turteltaub, K., Markee, C., Moore, D., Wyrobek, A., et al. (1999). Acrylamide causes preimplantation abnormalities in embryos and induces chromatin-adducts in male germ cells of mice. *Reprod Toxicol*, 13: 167–78.

Ho, W. H., Wang, S. M., & Yin, H. S. (2002). Acrylamide Disturbs the Subcellular Distribution of GABAA Receptor in Brain Neurons. *Journal of Cellular Biochemistry*, 85: 561–571.

Howard, P.H. 1989. Handbook of environmental fate and exposure data for organic chemicals. Chelsea (MI): Lewis Publishers, p. 13–19.

Huang, Y. F., Chen, M. L., Liou, S. H., Chen, M. F., Uang, S. N., & Wu, K. Y. (2011). Association of CYP2E1, GST and mEH genetic polymorphisms with urinary acrylamide metabolites in workers exposed to acrylamide. *Toxicology Letters*, 203:118–126.

Huang, Y. F., Wu, K. Y., G Liou, S. H., Uang, S. N., Chen, C. C., & Shih, W. C. (2011). Biological monitoring for occupational acrylamide exposure from acrylamide production workers. *Int Arch Occup Environ Health*, 84(3): 303–313.

Hulas-Stasiak, M., Dobrowolski, P., Tomaszewska, E., & Kostro, K. (2013). Maternal acrylamide treatment reduces ovarian follicle number in newborn guinea pig offspring. *Reprod Toxicol*, 42: 125–131.

Hu, Q., Xu, X., Li, Z., Zhang, Y., Wang, J., Fu, Y., et al. (2014). Detection of acrylamide in potato chips using a fluorescent sensing method based on acrylamide polymerization-induced distance increase between quantum dots. *Biosensors and Bioelectronics*, 54: 64–71.

Hu, Q., Xu, X., Fu, Y., & Li, Y. (2015). Rapid methods for detecting acrylamide in thermally processed foods: A review. *Food Control*, 56: 135–146.

Husain, R., Dixit, R., Das, M., & Seth, P. K. (1987). Neurotoxicity of acrylamide in developing rat brain: changes in the levels of brain biogenic amines and activities of monoamine oxidase and acetylcholine esterase. *Ind Health*, 25(1): 19–28.

I

IARC, 1994. Acrylamide. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, vol. 60, Lyon France, pp. 389–433.

Ikedo, G. J., Miller, E., Sapienza, P. P., Michel, T. C., & Inskeep, P. B. (1987). Comparative Tissue Distribution and Excretion of [1-14C] Acrylamide in Beagle Dogs and Miniature Pigs. *Fd Chem. Toxic*, 25(11): 871–875.

Imam, R. A., & Gadallah, H. N. (2018). Acrylamide-induced adverse cerebellar changes in rats: possible oligodendrogenic effect of omega 3 and green tea. *Folia Morphol*, 78(3): 564–574.

INERIS. (2019). Acrylamide, Fiche toxicologique

INRS. (2007). Acrylamide, Fiche toxicologique n F1 119. Paris, France.

INRS. (2010). Acrylamide, Synthèse des niveaux de preuve de danger par périodes d'exposition. Fiche toxicologique n 001. Paris, France.

INRS. (2019). Acrylamide, Fiche toxicologique n 119. Paris, France.

INSPQ. (2013). Importance de l'exposition à l'acrylamide par l'alimentation chez une population potentiellement vulnérable. Québec, Canada.

IRIS. (2010). Toxicological review of acrylamide (CAS No. 79-06-1), Washington. Récupéré sur www.epa.gov/iris.

J

JIFSAN/NCFST. (2002). Overview of Acrylamide Toxicity and Metabolism. Workshop on Acrylamide in Food Toxicology and Metabolic Consequences Working Group, p 1–35.

Jin, F., Chun Lai, L., Xu Dong, J., & Ning, L. I. (2014). Immunotoxicity of Acrylamide in Female BALB/c Mice. *Biomed Environ Sci*, 27(6): 401–409.

Jmahidi, K. (2015). Acrylamide - Induced Acute Nephrotoxicity in Rats. *International Journal of Scientific Research in Science and Technology*, 1(5): 286–293.

Johnson, K. A., Gorzinski, S. J., Bodner, K. M., Campbell, R. A., Wolf, C. H., Friedman, M. A., et al. (1986). Chronic toxicity and oncogenicity study on acrylamide incorporated in the drinking water of Fischer 344 rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 85(2): 154–168.

K

Kadry, A. M., Friedman, M. A., & Abdel-Rahman, M. S. (1999). Pharmacokinetics of acrylamide after oral administration in male rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 7: 127–133.

Kahloula, K., Adli, D.E., Slimani, M. (2017). Le précis des techniques neurocomportementales du petit rongeur. Editions Universités Européenne, p 60.

Karimani, A., Hosseinzadeh, H., Mehri, S., Jafarian, A. H., Kamali, S. A., & Mohammadpour, A. H. (2019). Histopathological and biochemical alterations in non-diabetic and diabetic rats following acrylamide treatment. *Toxin Reviews*: 1–8.

Keramat, J., LeBail, A., Prost, C., & Soltanizadeh, N. (2010). Acrylamide in Foods: Chemistry and Analysis. A Review. *Food Bioprocess Technol*, 4: 340–363.

Khalifa, N., El-Kholy, T. A., & Alghamdi, A. A. (2016). The effect of green tea on opposing toxicity of acrylamide on kidney function. *World Journal of Science, Technology and Sustainable Development*, 13(4):353–362.

Khan, M. A., Davis, C. A., Foley, G. L., Friedman, M. A., & Hansen, L. G. (1999). Changes in thyroid gland morphology after acute acrylamide exposure. *Toxicological Sciences*, 47(2): 151–157.

Khudiar, K.K., Hussein, G.J. (2017). Effect of alcoholic extract of *Salvia officinalis* leaves on some physiological parameters aspects in acrylamide-treated rats. *Adv. Anim. Vet. Sci*, 5(1): 47–55.

Kim, K. (2005). Effect of Subchronic Acrylamide Exposure on the Expression of Neuronal and Inducible Nitric Oxide Synthase in Rat Brain. *Biochem molecular toxicology*, 19(3): 162–168.

- Kim, T. H.,** Shin, S., Kim, K. B., Seo, W. S., Shin, J. C., Choi, J. H., et al. (2015). Determination of acrylamide and glycidamide in various biological matrices by liquid chromatography–tandem mass spectrometry and its application to a pharmacokinetic study. *Talanta*, *131*: 46–54.
- Kirman, C. R.,** Gargas, M. L., Deskin, R., Tonner-Navarro, L., & Andersen, M. E. (2003). A physiologically based pharmacokinetic model for acrylamide and its metabolite, glycidamide, in the rat. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, *66*:253–274.
- Klein C.,** (2007). L'acrylamide, Contaminant Alimentaire Cancérogène Méconnu?. Thèse de doctorat : Pharmacie. Université Henri Poincaré - Nancy I; p 112.
- Ko, M. H.,** Chen, W. P., Lin-Shiau, S. Y., & Hsieh, S. T. (1999). Age-Dependent Acrylamide Neurotoxicity in Mice: Morphology, Physiology, and Function. *Experimental Neurology*, *158* : 37–46.
- Koledin, I.,** Kovač, R., Rajković, V., and Matavulj, M. (2016). Subchronic exposure to acrylamide affects colon mucin secretion in juvenile wistar rats. *Arch Biol Sci*, *68*(3): 641–649.
- Kopanska, M.,** Lukác, N., Kapusta, E., & Formicki, G. R. (2015). Acrylamide Influence on Activity of Acetylcholinesterase, Thiol Groups, and Malondialdehyde Content in the Brain of Swiss Mice. *J Biochem Molecular Toxicology*, *29*(10): 472–478.
- Kopanska, M.,** Czech, J., Zagata, P., Dobrek, L., Thor, P., & Formicki, G. (2017). Effect of the different doses of acrylamide on acetylcholinesterase activity, thiol groups, malondialdehyde concentrations in hypothalamus and selected muscles of mice. *Journal of Physiology and Pharmacology*, *68*(4): 565–571.
- Kopp E.K.,** (2009). Biotransformation and Toxicokinetics of Acrylamide in Humans. Thèse de doctorat en sciences. Würzburg University; p 156.
- Koszucka, A.,** Nowak, A., Nowak, I., & Motyl, I. (2019). Acrylamide in human diet, its metabolism, toxicity, inactivation and the associated European Union legal regulations in food industry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *25*:1–16.
- Kovac, R.,** Rajkovic, V., Koledin, I., & Matavulj, M. (2015). Acrylamide alters glycogen content and enzyme activities in the liver of juvenile rat. *Acta Histochem*, *117*(8): 712–717.
- Krishna, G.,** Divyashri, G., Prapulla, S. G., & Muralidhara, M. (2015). A Combination Supplement of Fructo- and Xylo-Oligosaccharides Significantly Abrogates Oxidative Impairments and Neurotoxicity in Maternal/Fetal Milieu Following Gestational Exposure to Acrylamide in Rat. *Neurochem Res*, *40*(9): 1904–1918.

Kumar, J., Das, S., & Teoh, S. L. (2018). Dietary Acrylamide and the Risks of Developing Cancer: Facts to Ponder. *Frontiers in Nutrition*, 5(14):1–12.

L

Lai, S. M., Gu, Z. T., Zhao, M. M., Li, X. X., Ma, Y. X., Luo, L., et al. (2017). Toxic effect of acrylamide on the development of hippocampal neurons of weaning rats. *Neural Regen Res*, 12(10): 1648–1654.

Lapadula, D. M., Bowe, M., Carrington, C. D., Dulak, L., Friedman, M., & Abou-Donia, M. B. (1989). In vitro binding of [¹⁴C] acrylamide to neurofilament and microtubule proteins of rats. *Brain Res*, 481(1): 157–161.

Lebda, M. A., Gad, S. B., & Rashed, R. R. (2015). The effect of lipoic acid on acrylamide-induced neuropathy in rats with reference to biochemical, hematological, and behavioral alterations. *Pharm Biol*, 53(8): 1207–1213.

Lineback, D.R., Coughlin, J.R., & Stadler, R.H. (2012). Acrylamide in foods: a review of the science and future considerations. *Annu Rev Food Sci Technol*, 3:15–35.

Lin, C. Y., Lin, Y. C., Kuo, H. K., Hwang, J. J., Lin, J. L., Chen, P. C., & Lin, L. Y. (2009). Association among acrylamide, blood insulin, and insulin resistance in adults. *Diabetes Care*, 32(12): 2206–2211.

Li, J., Li, D., Yang, Y., Xu, T., Li, P., & He, D. (2016). Acrylamide induces locomotor defects and degeneration of dopamine neurons in *Caenorhabditis elegans*. *J Appl Toxicol*, 36(1): 60-67.

LoPachin, R.M., & Lehning, E.J. (1994). Acrylamide-induced distal axon degeneration: A proposed mechanism of action. *Neurotoxicology*, 15: 247–259.

LoPachin, R. M., Lehning, E. J., Opanashuk, L.A., & Jortner, B.S. (2000). Rate of neurotoxicant exposure determines morphologic manifestations of distal axonopathy. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 167: 75–86.

LoPachin, R. M., Ross, J. F., & Lehning, E.J. (2002). Nerve terminals as the primary site of acrylamide action: A hypothesis. *Neurotoxicology*, 23: 43–59.

LoPachin, R. M. (2004). The Changing View of Acrylamide Neurotoxicity. *NeuroToxicology*, 25: 617–630.

LoPachin, R. M., & Barber, D. S. (2006). Synaptic Cysteine Sulfhydryl Groups as Targets of Electrophilic Neurotoxicants. *Toxicological sciences*, 94(2): 240–255.

- LoPachin, R. M.,** Gavin, T., Geohagen, B. C., & Das, S. (2007). Neurotoxic Mechanisms of Electrophilic Type-2 Alkenes: Soft–Soft Interactions Described by Quantum Mechanical Parameters. *Toxicological Sciences*, 98(2): 561–570.
- Lopachin, R. M.,** & Gavin, T. (2008). Acrylamide-Induced Nerve Terminal Damage: Relevance to Neurotoxic and Neurodegenerative Mechanisms. *J. Agric. Food Chem*, 56 : 5994–6003.
- LoPachin, R.M.,** & Gavin, T. (2012). Molecular Mechanism of Acrylamide Neurotoxicity: Lessons Learned from Organic Chemistry. *Environmental Health Perspectives*, 120(12): 1650 – 1657.
- Luong, T. N.,** Carlisle, H. J., Southwell, A., & Patterson, P. H. (2011). Assessment of Motor Balance and Coordination in Mice using the Balance Beam. *J Vis Exp*, 49: 2376.
- Lyn-Cook, L. E.,** Tareke, E., Word, B., Starlard-Davenport, A., Lyn-Cook, B. D., & Hammons, G. J. (2011). Food contaminant acrylamide increases expression of Cox-2 and nitric oxide synthase in breast epithelial cells. *Toxicology and Industrial Health*, 27(1) : 11–8.

M

- Machiels, D.,** & Istasse, L. (2002). La réaction de Maillard : importance et applications en chimie des aliments. *Ann. Méd. Vét*, 146: 347–352.
- Mahmood, S.,** Amin, K., & Salih, S. (2015). Effect of Acrylamide on Liver and Kidneys in Albino Wistar Rats. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 4(5): 434–444.
- Mahmood, S.,** Amin, K., Rahman, H. S., & Othman, H. H. (2016). The Pathophysiological Effects of Acrylamide in Albino Wister Rats. *International Journal of Medical Research & Health Sciences*, 5(7): 42–48.
- Manjanatha, M.G.,** Aidoo, A., Shelton, S.D., Bishop, M.E., McDaniel, L.P., Lyn-Cook, L.E., & Doerge, D.R. (2006). Genotoxicity of acrylamide and its metabolite glycidamide administered in drinking water to male and female Big Blue mice. *Environ. Mol. Mutagen*, 47:6–17.
- Mansour, M. K.,** Ibrahim, E. M., El-Kholy, M. M., & El-Madawy, S. A. (2008). Antioxidant and histopathological effect of catechin and neem leaves extract in acrylamide toxicity of rats. *Egypt. J. Comp. Path. & Clinic. Path.*, 21(1): 290–313.
- Mansour, S. Z.,** Moawed, F. S., & Elmarkaby, S. M. (2017). Protective effect of 5, 7-dihydroxyflavone on brain of rats exposed to acrylamide or γ -radiation. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 175: 149–155.

- Marie-Pierre, M., & Le Moal, M.** (2012). Le stress dans tous ses états. *médecine/sciences*, 28: 612–617.
- Marković, J., Stošić, M., Kojić, D., & Matavulj, M.** (2018). Effects of acrylamide on oxidant/antioxidant parameters and CYP2E1 expression in rat pancreatic endocrine cells. *Acta Histochem*, 120(2): 73–83.
- Marlowe, C., Jo Clark, M., Mast, R. W., Friedman, M. A., & Waddell, W. J.** (1986). The Distribution of [14C] Acrylamide in Male and Pregnant Swiss-Webster Mice Studied by Whole-Body Autoradiography. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 86: 457–465.
- Maronpot, R. R., Thoolen, R. J., & Hansen, B.** (2015). Two-year carcinogenicity study of acrylamide in Wistar Han rats with in utero exposure. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 67(2): 189–195.
- Marsh, G. M., Youk, A. O., Buchanich, J. M., Kant, I. J., & Swaen, G.** (2007). Mortality Patterns Among Workers Exposed to Acrylamide: Updated Follow Up. *J Occup Environ Med*, 49(1):82–95.
- Matoso, V., Bargi-Souza, P., Ivanski, F., Romano, M. A., & Romano, R. M.** (2019). Acrylamide: a review about its toxic effects in the light of Developmental Origin of Health and Disease (DOHaD) concept. *Food Chemistry*, 15(283): 422–430.
- Ma, Y., Shi, J., Zheng, M., Liu, J., Tian, S., He, X., Zhang, D., Li, G., & Zhu, J.** (2011). Toxicological effects of acrylamide on the reproductive system of weaning male rats. *Toxicol and Health*, 27(7):617–627.
- Mehri, S., Karami, H. V., Hassani, F. V., & Hosseinzadeh, H.** (2014). Chrysin Reduced Acrylamide-Induced Neurotoxicity in both in vitro and in vivo Assessments. *Iranian Biomedical Journal*, 18(2): 101–106.
- Mehri, S., Abnous, K., Khooei, A., Mousavi, S. H., Shariaty, V. M., & Hosseinzadeh, H.** (2015). Crocin reduced acrylamide-induced neurotoxicity in Wistar rat through inhibition of oxidative stress. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 18(9): 902–908.
- Miller, M. J., Carter, D. E., & Sipes, I. G.** (1982). Pharmacokinetics of Acrylamide in Fisher-334 Rats. *Toxicology and applied pharmacology*, 63: 36–44.
- Mnif I.** (2015). Devenir des flocculants à base de polyacrylamide dans un site de granulat : interactions avec les solides naturels et photodégradation. Thèse de doctorat : Sciences de l'Environnement. Université de Nice-Sophia Antipolis ; p 140.
- Mohi, A. O., Romeilah, R. M., Elgammal, M. H., Ramis, E. S., & Hasan, R. S.** (2016). Subchronic Toxicity of Acrylamide in Fried Rice and Preventive Effect of Grape Leaves. *Asian Journal of Biochemistry*, 11(2): 68–81.

Mojska, H., Gielecińska, I., & Cendrowski, A. (2016). Acrylamide content in cigarette mainstream smoke and estimation of exposure to acrylamide from tobacco smoke in Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 23(3): 456–461.

Mukhtar, H., Dixit, R., & Seth, P.K. (1981). Reduction in cutaneous and hepatic glutathione contents, glutathione-s-transferase and aryl hydrocarbon hydroxylase activities following topical application of acrylamide to mouse. *Toxicology Letters*, 9:153–156.

Mustafa A., (2008). Acrylamide in Bread Precursors, Formation and Reduction. Thèse de doctorat: Agricultural Sciences. Swedish University; p 58.

N

Noble, W., Planel, E., Zehr, C., Olm, V., Meyerson J, Suleman, F., et al.(2005). Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by lithium correlates with reduced tauopathy and degeneration in vivo. *Proc Natl Acad Sci*, 102: 6990–6995.

NTP CERHR, Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction. (2005). NTP-CERHR monograph on the potential human reproductive and developmental effects of acrylamide. *Ntp Cerhr Mon*, (5).

O

Odland, L., Romert, L., Clemenson, C., & Walum, E. (1994). Glutathione content, glutathione transferase activity and lipid peroxidation in acrylamide-treated neuroblastoma N1E 115 cells. *Toxicol in Vitro*, 8(2): 263–267.

Ogawa, B., Ohishi, T., Wang, L., Takahashi, M., Taniai, E., Hayashi, H., et al. (2010). Disruptive neuronal development by acrylamide in the hippocampal dentate hilus after developmental exposure in rats. *Arch Toxicol*, 85: 987–994.

Ogawa, B., Wang, L., Ohishi, T., Taniai, E., Akane, H., Suzuki, K., et al. (2012). Reversible aberration of neurogenesis targeting late-stage progenitor cells in the hippocampal dentate gyrus of rat offspring after maternal exposure to acrylamide. *Arch Toxicol*, 86: 779–790.

Ohara, T., Sato, T., Shimizu, N., Prescher, G., Schwind, H., Weiberg, O., Marten, K., et al. (2012). *Acrylic Acid and Derivatives*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Allemagne; p 18.

Ølstørn, H., Paulsen, J. E, & Alexander, J. (2007). Effects of Perinatal Exposure to Acrylamide and Glycidamide on Intestinal Tumorigenesis in Min/+ Mice and Their Wild-type Litter Mates. *Anticancer Research*, 27:3855–3864.

P

- Parisi, S., & Weihui, L.** (2018). Chemistry of Maillard Reactions in Processed Foods. Briefs in Molecular Science Chemistry of Foods, Springer Palermo, Italy, p: 58.
- Park, H. R., Kim, M. S., Kim, S. J., Park, M., Kong, K. H., Kim, H. S., et al.** (2010). Acrylamide induces cell death in neural progenitor cells and impairs hippocampal neurogenesis. *Toxicology Letters*, 193: 86–93
- Pennisi, M., Malaguarnera, G., Puglisi, V., Vinciguerra, L., Vacante, M., & Malaguarnera, M.** (2013). Neurotoxicity of Acrylamide in Exposed Workers. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 10: 3843–3854.
- Perrotin, G.** (2004). Synthèse bibliographique sur la réaction de Maillard et les composés potentiellement toxiques. Inserm, Lyon.
- Petersen, D. W., Kleinowa, K. M., Kraska, R. C., & Lech, O. J.** (1985). Uptake, disposition, and elimination of acrylamide in rainbow trout. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 80(1): 58–65.
- Porsolt, R.D., Pichon, M.L., & Jalfre, M.** (1977). Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 266:730–732
- Prasad, S. N., & Muralidhara, S.** (2014). Evidence of acrylamide induced oxidative stress and neurotoxicity in *Drosophila melanogaster* – Its amelioration with spice active enrichment: Relevance to neuropathy. *NeuroToxicology*, 33:1254–1264.
- Prasad, S. N., & Muralidhara,** (2018). The vulnerability of diabetic rats to neurotoxin acrylamide: An interactive study. *J. Res. Pharm. Sci*, 9(3): 940–949.
- Pundir, C. S., Yadav, N., & Chillar, A. K.** (2019). Occurrence, synthesis, toxicity and detection methods for acrylamide 1 determination in 2 processed foods with special reference to biosensors: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 68.

Q

- Qusti, S. Y., & Al-Qahtani, J. M.** (2015). Neuroprotective role of Saffron against Acrylamide-Induced Neurotoxicity in Rats by Antioxidative Activity. *Merit Research Journal of Environmental Science and Toxicology*, 3(9): 091–101.

R

- Rafales, L. S., Lasley, S. M., Greenland, R. D., & Mandybur, T.** (1983). Effects of acrylamide on locomotion and central monoamine function in the rat.. *Pharmacol Biochem Behav*, 19(4): 635–644.

- Raj, J.,** Prasad, S., & Bhalla, T. C. (2006). Rhodococcus rhodochrous PA34: A potential biocatalyst for acrylamide synthesis. *Process Biochemistry*, 41(6): 13591–1363.
- Rajeh, N.,** Ali, H., & ElAssouli, S. (2014). Protective Effects of 5-Aminosalicylic Acid on Acrylamide Toxicity in the Testis and Blood Leukocytes of the Rat. *Kuwait Medical Journal*, 46(1): 32–43.
- Rajeh, N. A.,** & Al-Dhaheri, N. M. (2017). Antioxidant effect of vitamin E and 5-aminosalicylic acid on acrylamide induced kidney injury in rats. *Saudi Med J*, 38(2): 132–137.
- Ramsey, J.,** Young, J.D., & Gorzinski, S.J. (1984). Acrylamide: Toxicodynamics in the Rat. Midland, MI, Dow Chemical Company.
- Rawi, S. M.,** Marie, M. S., Fahmy, S. R., & El-Abied, S. A. (2012). Hazardous effects of acrylamide on immature male and female rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(18): 1367–1386
- Rivadeneira-Domínguez, E.,** Becerra-Contreras, Y., Vázquez-Lunaa, A., Díaz-Sobac, R., & Rodríguez-Landa, J. F. (2018). Alterations of blood chemistry, hepatic and renal function, and blood cytometry in acrylamide-treated rats. *Toxicology Reports*, 5:1124–1128.
- Robinson, M.,** Bull, R.J., Knutsen, G.L., Shields, R.P., & Stober J. (1986). A combined carcinogen bioassay utilizing both the lung adenoma and skin papilloma protocols. *Environ. Health Perspect*, 68: 141–145.

S

- Sabine, B.** (2008). Acrylamide Risk Governance in Germany. In O. Renn, and K. D. Walker (Éds.), *Global Risk Governance* (pp. 231–274). Cologne, Germany: EBook Packages.
- Sadeghian, A.,** Fathollahi, Y., Javan, M., Shojaei, A., Kosarmadar, N., Rezaei, M., et al. (2018). Learning and Memory in Barnes Maze Don't Lead to Synaptic Potentiation in Freely Moving Rat Hippocampus. *Basic and Clinical Neuroscience*.
- Sadek, K. M.** (2012). Antioxidant and Immunostimulant Effect of Ca rica Papa ya Linn. Aqueous Extract in Acrylamide Intoxicated Rats. *Acta Inform Med*, 20(3): 180–185.
- Sakamoto, J.,** Hashimoto, K. (1986). Reproductive toxicity of acrylamide and related compounds in mice—effects on fertility and sperm morphology. *Arch Toxicol*, 59: 201–5.

- Sakr, S. A.,** Badawy, G. M., El-Sayyad, H. I., and Afify, H. S. (2011). Adverse Effects of Acrylamide on the Developing Retina of Albino Rats. *J. Basic. Appl. Sci. Res*, 1(7): 706–712.
- Santacana M.O.,** (2016). Dietary intake and biomarkers of acrylamide exposure and risk of endometrial and ovarian cancer. Thèse de doctorat: Médecine. Université de Barcelona; p 180.
- Santhanasabapathy, R.,** Vasudevan, S., Anupriya, K., Pabitha, R., & Sudhandiran, G. (2015). Farnesol quells oxidative stress, reactive gliosis and inflammation during acrylamide-induced neurotoxicity: Behavioral and biochemical evidence. *Neuroscience*, 308 : 212–227.
- Satyajit, P. G.,** Padol, A. R., & Balakrishnamurthy, P. (2015). Evaluation of neurobehavioral effects of acrylamide under functional observational battery (fob) in rats on repeated oral exposure. *Journal of Pharmaceutical Biology*, 5(1): 22–28.
- Schabacker, J.,** Schwend, T., & Wink, M. (2004). Reduction of Acrylamide Uptake by Dietary Proteins in a Caco-2 Gut Model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(12): 4021–4025.
- Schettgen, T.,** Rossbach, B., Kütting, B., Letzel, S., Drexler, H., & Angerer, J. (2004). Determination of haemoglobin adducts of acrylamide and glycidamide in smoking and non-smoking persons of the general population. *Int J Hyg Environ Health*, 207(6); 531–539.
- Segerbäck, D.,** Calleman, D., Schroeder, J. L., Costa, L. G., & Faustman, E. M. (1995). Formation of N-7-(2-carbamoyl-2-hydroxyethyl) guanine in DNA of the mouse and the rat following intraperitoneal administration of [¹⁴C] acrylamide. *Carcinogenesis*, 16(5): 1161–1165.
- Şekeroğlu, Z. A.,** Aydın, B., & Şekeroğlu, V. (2017). Argan oil reduces oxidative stress, genetic damage and emperipolexis in rats treated with acrylamide. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 94 : 873–879.
- Semla, M.,** Goc Z, Z., Martiniaková, M., Omelka, R., & Formicki, G. (2017). Acrylamide a common food toxin related to physiological functions and health. *Physiological Research*, 66(2):205–217.
- Shi, J.,** Ma, Y., Zheng, M., Ruan, Z., Liu, J., & Tian, S. (2012). Effect of sub-acute exposure to acrylamide on GABAergic neurons and astrocytes in weaning rat cerebellum. *Toxicology and Industrial Health*, 28(1): 10–20.

- Shinomol, G. K.,** Raghunath, N., Bharath, M. M., & Muralidhara, M. (2013). Prophylaxis with *Bacopa monnieri* attenuates acrylamide induced neurotoxicity and oxidative damage via elevated antioxidant function. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem*, 13(1): 3–12.
- Shrivastava, S.,** Uthra, C., Mohd., Reshi, S., & Shukla, S. (2017). Protective Role of Kaempferol Against Acrylamide Intoxication. *Free Radicals and Antioxidants*, 7(1): 36–42.
- Shrivastava, S.,** Uthra, C., Salim, R. M., Asha, S., Deepa, Y., & Sangeeta, S. (2018). Protective effect of hesperetin against acrylamide induced acute toxicity in rats. *Indian journal of experimental biology*, 56(3): 164–170.
- Sickles, D.W.,** Stone J.D., and Friedman, M.A. (2002). Fast axonal transport: A site of acrylamide neurotoxicity. *Neurotoxicology*, 23(2): 223–251.
- Sisnaiske, J.,** Hausherr, V., Krug, A. K., Zimmer, B., Hengstler, J. G., & Leist, M. (2014). Acrylamide alters neurotransmitter induced calcium responses in murine ESC-derived and primary neurons. *NeuroToxicology*, 4: 117–126.
- Skog K.,** & Alexander J., 2006. Acrylamide and other hazardous compounds in heat-treated foods. Elsevier Science, Bosa Roca, United States. 513p.
- Soliman, G.** (2013). Protective Effect of *Solanum nigrum*, Vitamin C or Melatonin on the Toxic Effect of Acrylamide on Rats. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 5(5): 47–54.
- Sörgel, F.,** Weissenbacher, R., Kinzig-Schippers, M., Hofmann, A., Illauer, M., Skott, A., et al. (2002). Acrylamide: Increased Concentrations in Homemade Food and First Evidence of Its Variable Absorption from Food, Variable Metabolism and Placental and Breast Milk Transfer in Humans. *Chemotherapy*, 48: 267–274.
- Southwell, A.L.,** Ko, J., & Patterson, P.H. (2009). Intrabody gene therapy ameliorates motor, cognitive, and neuropathological symptoms in multiple mouse models of Huntington's disease. *J Neurosci*, 29:13589–13602.
- Spencer, P.S.,** & Schaumburg, H.H. (1974a). A review of acrylamide neurotoxicity. Part I. Properties, uses and human exposure. *Can J Neurol Sci*, 1: 143–150.
- Spencer, P.S.,** & Schaumburg, H.H (1974b). A review of acrylamide neurotoxicity. Part II Experimental animal neurotoxicity and pathologic mechanisms. *Canad J Neurol Sci*, 1(3): 152–69.
- Stošić, M.,** Matavulj, M., & Marković, J. (2018). Effects of subchronic acrylamide treatment on the endocrine pancreas of juvenile male Wistar rats. *Biotechnic & Histochemistry*, 93(2): 89–98.

Sublet, V. H., Zenick, H., & Smith, M. K. (1989). Factors associated with reduced fertility and implantation rates in females mated to acrylamide treated rats. *Toxicology*, 55: 53–67.

Sumizawa, T., & Igisu, H. (2007). Apoptosis induced by acrylamide in SH-SY5Y cells. *Archive für Toxikologie*, 81(4): 279–282.

Sumner, S. C., Fennell, T. R., Moore, T. A., Chanas, B., Gonzalez, F., & Ghanayem, B. I. (1999). Role of Cytochrome P450 2E1 in the Metabolism of Acrylamide and Acrylonitrile in Mice. *Chem. Res. Toxicol*, 12: 1110–1116.

Sumner, S. C., Williams, C. C., Snyder, R. W., Krol, W. L., Asgharian, B., & Fennell, T. R. (2003). Acrylamide: A Comparison of Metabolism and Hemoglobin Adducts in Rodents following Dermal, Intraperitoneal, Oral, or Inhalation Exposure. *Toxicological Sciences*, 75: 260–270.

Swaen, G. M., Haidar, S., Burns, C. J., Bodner, K., Parsons, T., Collins, J. J., et al. (2007). Mortality study update of acrylamide workers. *Occup Environ Med*, 64(6): 396–401.

T

Tabeshpour, J., Mehri, S., Abnous, K., & Hosseinzadeh, H. (2019). Neuroprotective Effects of Thymoquinone in Acrylamide-Induced Peripheral Nervous System Toxicity through MAPKinase and Apoptosis Pathways in Rat. *Neurochemical Research*, 44(5):1101–1112.

Takahashi, M., Shibutani, M., Nakahigashi, J., Sakaguchi, N., Inoue, K., & Morikawa, T. (2009). Limited lactational transfer of acrylamide to rat upspring on maternal oral administration during the gestation and lactation periods. *Arch Toxicol*, 83: 785–793.

Tan, X., Ye, J., Liu, W., Zhao, B., Shi, X., & Zhang, C. (2019). Acrylamide aggravates cognitive deficits at night period via the gut-brain axis by reprogramming the brain circadian clock. *Arch Toxicol*, 93(2): 467–486.

Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S., & Törnqvist, M. (2000). Acrylamide: a cooking carcinogen. *Chem Res Toxicol*, 13(6): 517–522.

Tareke, T., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S., & Törnqvist, M. (2002). Analysis of Acrylamide, a Carcinogen Formed in Heated Foodstuffs. *J. Agric. Food Chem*, 50: 4998–5006.

Tareke, E., Lyn-Cook, B.D., Duharta, H., Newporta, G., & Ali, S. (2009). Acrylamide decreased dopamine levels and increased 3-nitrotyrosine (3-NT) levels in PC 12 cells. *Neurosci. Lett*, 458: 89–92.

Taubert, D., Glöckner, R., Müller, D., & Schömig, E. (2006). The garlic ingredient diallyl sulfide inhibits cytochrome P450 2E1 dependent bioactivation of acrylamide to glycidamide. *Toxicology Letters*, 164: 1–5.

Tian, S. M., Ma, Y.X., Shi, J., Lou, T. Y., Liu, S.S., & Li GY. (2015). Acrylamide neurotoxicity on the cerebrum of weaning rats. *Neural Regen Res*, 10: 938–943.

Tilson, H. A. (1981). The neurotoxicity of acrylamide: an overview. *Neurobehav Toxicol Teratol*, 3:445–61.

Tomaszewska, E., Dobrowolski, P., Puzio, I., Prost, L., Kurlak, P., Sawczuk, P., et al. (2014). Acrylamide-induced prenatal programming of intestine structure in guinea pig. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 65(1): 107–115.

Totani, N., Yawata, M., Ojiri, Y., & Fujioka, Y. (2007). Effects of trace acrylamide intake in Wistar rats. *J Oleo Sci*, 56: 501–6.

Tourdias, T., Mori, N., Dragonu, L., Cassagno, N., Boiziau, C., & Aussudre, J. (2011). Differential aquaporin 4 expression during edema build-up and resolution phases of brain inflammation. *Journal of Neuroinflammation*, 8: 143.

Tsujihata, M., Engel, A. G., & Lambert, E. H. (1974). Motor endplate fine structure in acrylamide dying-back neuropathy: A sequential morphometric study. *Neurology*. 24: 849–856.

Tyl, R.W., Friedman, M.A., Losco, P.E., Fisher, L.C., Johnson, K.A., Strother, D.E., et al. (2000). Rat two-generation reproduction and dominant lethal study of acrylamide in drinking water. *Reprod Toxicol*, 14: 385–401.

Tyl, R. W., Marr, M. C., Myers, C. B., Ross, W. P., & Friedman, M. A. (2000). Relationship between acrylamide reproductive and neurotoxicity in male rats. *Reproductive Toxicology*, 14(14): 147–157.

Tyl, R. W., & Friedman, M. A. (2003). Effects of acrylamide on rodent reproductive performance. *Reproductive Toxicology*, 17: 1–13.

U

Uphouse, L.L., Nemeroff, C.B., Mason, G., Prange, A.J., & Bondy, S.C. (1982). Interactions between handling and acrylamide on endocrine response in rats. *Neurotoxicology*, 3: 121–125.

V

Vershueren, K. (2001). Handbook of environmental data on organic chemicals, 5th edition, John Wiley and Sons, Incorporated, New York, pp. 295-305.

Von Tungeln, L. S., Churchwell, M. I., Doerge, D. R., Shaddock, J. G., McGarrity, L. J., Heflich, R. H., et al. (2009). DNA adducts formation and induction of micronuclei and mutations in B6C3F1/Tk mice treated neonatally with acrylamide or glycidamide. *Int. J. Cancer*, 124(9) : 2006–2015.

Von Tungeln, L.S., Doerge, D.R., Gamboa da Costa. G., Marques, M.M., Witt, W.M., Koturbash, I., et al. (2012). Tumorigenicity of acrylamide and its metabolite glycidamide in the neonatal mouse bioassay. *Int. J. Cancer*, 131: 2008–2015.

W

Walters, B., Hariharan, V., & Huang, H. (2014). Dietary levels of acrylamide affect rat cardiomyocyte properties. *Food and Chemical Toxicology*, 71: 68–73.

Wang, C. (2013). "Enhanced Activity And Stability Of Enzymes Associated With Delayed Fruit Ripening In Rhodococcus rhodochrous DAP 96253." Dissertation, Georgia State University; p 111.

Wang, H., Huang, P., Lie, T., Li, J., Hutz, R.J., Li, K., et al. (2010). Reproductive toxicity of acrylamide-treated male rats. *Reprod Toxicol*, 29: 225–30.

Wang, Q., Chen, X., Ren, Y., Chen, Q., Meng, Z., Cheng, J., et al. (2016). Toxicokinetics and internal exposure of acrylamide: new insight into comprehensively profiling Mercapturic acid metabolites as short-term biomarkers in rats and Chinese adolescents. *Arch Toxicol*, 91: 2107–2118.

Watzek, N., Scherbl, D., Schug, M., Hengstler, J. G., Baum, M., Habermeyer, M., & Eisenbrand, G. (2013). Toxicokinetics of acrylamide in primary rat hepatocytes: coupling to glutathione is faster than conversion to glycidamide. *Arch Toxicol*.

Wei, Q., Li, J., Li, X., Zhang, L., & Shi, F. (2014). Reproductive toxicity in acrylamide-treated female mice. *Reproductive Toxicology*, 46: 121–128.

Wenzl, T., De la Calle, B., Ulberth, F., & Anklam, E. (2004). Detailed report on the first European inter-laboratory comparison study on the determination of acrylamide in butter cookies and crispbread. *European Commission*,.

Wenzl, T., & Anklam, E. (2007). EU database on acrylamide levels in food – update and critical review on data collection. *Food Additives and Contaminants*, 24: 5–12.

WHO. (2003). Acrylamide in Drinking-water: Background document for development of WHO *Guidelines for Drinking-water Quality*.

Wilson, K. M., Rimm, E. B., Thompson, K. M., & Mucci, L. A. (2006). Dietary Acrylamide and Cancer Risk in Humans: A Review. *J. Verbr. Lebensm*, 1: 19–27.

Wise, L. D., Gordon, L. R., Soper, K. A., Duchai, D. M., & Morrissey, R. E. (1994). Developmental Neurotoxicity Evaluation of Acrylamide in Sprague-Dawley Rats. *Neurotoxicology and Teratology*, 17(2): 189–198.

Y

Yan, D., Yao, J., Liu, Y., Zhang, X., Wang, Y., Chen, X., et al. (2018). Tau hyperphosphorylation and P-CREB reduction are involved in acrylamide-induced spatial memory impairment: Suppression by curcumin. *Brain, Behavior, and Immunity*, 71: 66–80

Yang, H. J., Lee, S. H., Jin, Y., Choi, J. H., Han, C. H., & Lee, M. H. (2005). Genotoxicity and toxicological effects of acrylamide on reproductive system in male rats. *Journal of Veterinary Science*, 6(2):103–109.

Yener, Y., Sur, E., Telatar, T., & Oznurlu, Y. (2013). The effect of acrylamide on alpha-naphthyl acetate esterase enzyme in blood circulating lymphocytes and gut associated lymphoid tissues in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 65: 143–146.

Yener, Y., Çelik, İ., Sur, E., Öznurlu, Y., & Özeydin, T. (2019). Effects of long term oral acrylamide administration on alpha naphthyl acetate esterase and acid phosphatase activities in the peripheral blood lymphocytes of rats. *Biotechnic & Histochemistry*, 94(5): 352–359.

Yilmaz, B. O., Yildizbayrak, N., Aydin, Y., & Erkan, M. (2017). Evidence of acrylamide- and glycidamide-induced oxidative stress and apoptosis in Leydig and Sertoli cells. *Hum Exp Toxicol*, 36(12) : 1225–1235.

Wong K. A., (2017). Screening for Acrylamide Levels in French Fries Using Portable Vibrational Spectrometers. Thèse de doctorat: Food Science and Technology. Ohio State University; p 55.

Yousef, M. I., & El-Demerdash, F. M. (2006). Acrylamide-induced oxidative stress and biochemical perturbations in rats. *Toxicology*, 219:133–141.

Yu, D., Xie, X., Qiao, B., Ge, W., Gong, L., Luo, D., et al. (2019). Gestational exposure to acrylamide inhibits mouse placental development in vivo. *Journal of Hazardous Materials*, 367: 160–170.

Yu, S. F., Son, F., Yu, J., Zhao, X., Yu, L., Li, G., et al. (2006). Acrylamide Alters Cytoskeletal Protein Level in Rat Sciatic Nerves. *Neurochem Res*, 31: 1197–1204.

Yu, S. F., Song, F. Y., Yi, C., Yang, X. W., Li, G. Z., Zhang, C. L., et al. (2013). Acrylamide Alters Cytoskeletal Protein Level in Rat Serum. *Biomed Environ Sci*, 26(11): 926–929.

Yusà, V., Quintas, G., Pardo, O., Martí, P., & Pastor, A. (2006). Determination of acrylamide in foods by pressurized fluid extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Survey of Acrylamide in cereal-based foods from Spain. *Food Additives and Contaminants*, 23(3): 237–244.

Z

Zamani, E., Shokrzadeh, M., Ziar, A., Abedian-Kenari, S., & Shaki, F. (2017). Acrylamide attenuated immune tissues' function via induction of apoptosis and oxidative stress: Protection by L-carnitine. *Human and Experimental Toxicology*, 37(8): 859–869.

Zamora, R., Delgado, R. M., & Hidalgo, F. J. (2010). Model Reactions of Acrylamide with Selected Amino Compounds. *J. Agric. Food Chem*, 58: 1708–1713.

Zeiger, E., Recio, L., Fennell, T.R., Haseman, J.K., Snyder, R.W., & Friedman, M. (2009). Investigation of the low-dose response in the in vivo induction of micronuclei and adducts by acrylamide. *Toxicol. Sci*, 107:247–257.

Zenick, H., Hope, E., & Smith, M. K. (1986). Reproductive toxicity associated with acrylamide treatment in male and female rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 17 : 457–472.

Zhang, Y., Wang, Q., Cheng, J., Zhang, J., Xu, J., & Ren, Y. (2015). Comprehensive profiling of Mercapturic acid metabolites from dietary acrylamide as short-term exposure biomarkers for evaluation of Toxicokinetics in rats and daily internal exposure in humans using isotope dilution ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 894:54–64.

Zhivagui, M., Alvin, W. T., Ardin, M., Churchwell, M. I., Pandey, M., Renard, C., et al. (2019). Experimental and pan-cancer genome analyses reveal widespread contribution of acrylamide exposure to carcinogenesis in humans. *Genome Res*, 29(4): 521–531.

Zhu, Y. J., Zeng, T., Zhu, Y. B., Yu, S. F., Wang, Q. S., Zhang, L. P., et al. (2008). Effects of Acrylamide on the Nervous Tissue Antioxidant System and Sciatic Nerve Electrophysiology in the Rat. *Neurochem Res*, 33: 2310–2317.

Zitouni M.A., (2010). Optimisation de la polymérisation adiabatique de l'acrylamide - Hydrolyse basique et comportement en solution aqueuse des copolymères. Mémoire: chimie. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen; p 120.

Zödl, B., Schmid, D., Wassler, G., Gundacker, C., Leibetseder, V., Thalhammer, T., et al. (2007). Intestinal transport and metabolism of acrylamide. *Toxicology*, 232: 99–108.

Zong, C., Hasegawa, R., Urushitani, M., Zhang, L., Nagashima, D., Sakurai, T., et al (2019). Role of microglial activation and neuroinflammation in neurotoxicity of acrylamide in vivo and in vitro. *Arch Toxicol*, 93(7): 2007–2019.

Abstract:

Acrylamide (Acry) is an important industrial chemical widely used in different processes. The aim of this study is to evaluate the neurotoxicity of oral Acry treatment (400ppm) in developing mice using neurobehavioral tests, biochemical analyses and a histopathological study.

The results obtained indicate that Acry administration induced a postnatal mortality and growth retardation of the offspring, loss of the body weight, some neurobehaviors disorders on the immature mice as foot splay, hind limb paralysis, ataxia, anxiety, reduction of exploration behavior via Gait score, Beam balance, Dark and light, Open filed tests respectively.

Furthermore, Acry induced a hyperglycaemia and increased significantly a total cholesterol and creatinine concentrations, decrease a triglycerides level, moreover, its cytotoxicity was markedly observed on cerebellar as congestions, necrosis, vacualisations and a deformation and reduction of the granular layer and a degeneration of purkinje cells on the cerebellum sections.

In conclusion, the present study showed that, Acry as teratogenic and neurotoxic substance induced hazardous effects on mice.

Keywords: Acrylamide, neurotoxicity, anxiety, motor skills, depression.

Résumé :

L'acrylamide (Acry) est produit chimique utilisé dans différentes procédures industrielles. L'objectif de cette étude vise à évaluer le pouvoir neurotoxique d'une exposition orale à l'Acry à une dose de 400 ppm chez des souris au cours de développement au moyen des tests neurocomportementaux, des analyses biochimiques et une étude histopathologique.

Les résultats obtenus indiquent que l'Acry a induit une mortalité postnatale de la progéniture et un retard de développement, une perte de poids corporel, des troubles neurocomportementaux chez les jeunes souris comme l'évasement du panard, la paralysie des membres postérieurs, l'ataxie, l'anxiété, la réduction du comportement d'exploration à travers les tests du score d'ambulation, la poutre d'équilibre, le double compartiment noir et blanc et le test du champ ouvert respectivement.

En outre que l'Acry induit une hyperglycémie, une hypercholestérolémie, hypercréatinémie et réduit le taux des triglycérides, de plus, sa cytotoxicité a été décelée de façon marquée au niveau des sections cérébrales à savoir des congestions, des nécroses, des vacuolisations, ainsi une déformation et une réduction de la couche granuleuse et une dégénérescence des cellules de Purkinje au niveau des sections cérébelleuses.

En conclusion, la présente étude montre que l'Acry exerce une tératogénicité et une neurotoxicité en induisant des effets indésirables sur les souris.

Mots clés : Acrylamide, neurotoxicité, anxiété, motricité, dépression.