

**Exposition à un mélange de contaminants durant la grossesse et la période post-partum:
effets sur la grossesse et le nombre de cellules gliales cérébrales**

Ramez Monsef Mourad Antoun

Thèse soumise à l'Université d'Ottawa
dans le cadre des exigences du programme
Maîtrise en sciences interdisciplinaires de la santé

**École interdisciplinaire des sciences de la santé
Faculté des sciences de la santé
Université d'Ottawa**

Table des matières

Abstract	iv
Abréviations.....	vii
Chapitre 1: Introduction	1
1.1 Rationnel.....	1
1.2 Objectifs	2
1.3 Questions de recherche et hypothèse.....	3
1.4 Retombés du projet	3
Chapitre 2: Neuroanatomie et Physiologie	5
2.1 Neuroanatomie.....	5
2.1.1 Hippocampe	6
2.1.2 Aire préoptique médiane (MPOA)	8
2.2 Grossesse et période post-partum	9
2.3 Les mécanismes de mémoire et de réponses maternelles.....	11
2.4 Choix du modèle animal	12
2.5 Biomarqueurs.....	14
2.5.1 GFAP.....	14
2.5.2 Nissl	15
Chapitre 3 : Exposition aux Contaminants	16
3.1 Les contaminants et le cerveau	16
3.2 Exposition aux Biphényles Polychlorés	17
3.3 Exposition au Méthylmercure.....	19
3.4 Exposition aux composées organochlorées.....	20
3.5 Exposition à un mélange	22
Chapitre 4: Méthodes	24
4.1 Les animaux et les traitements	24
4.2 Tranchage.....	25
4.3 Coloration de NISSL.....	25
4.4 Immunohistochimie	26

4.5 Choix neuroanatomiques.....	27
4.5.1 Choix des régions et des tissus.....	27
4.5.2 Délimitation des régions d'intérêt.....	28
4.6 Comptage de cellules positives.....	28
4.7 Analyses Statistiques.....	29
Chapitre 5: Résultats	30
5.1 Implantations utérines et nourrissons vivants	30
5.2 Survie jusqu'à la 5 ^{ème} journée postnatale	30
5.3 Immunohistochimie.....	30
5.4 Coloration Nissl.....	31
Chapitre 6: Discussion	32
6.1 Survie à la naissance et distribution des sexes	32
6.2 L'effet de l'exposition périnatale au mélange de contaminants et au MeHg sur le nombre de neurones au niveau de l'hippocampe et de l'aire préoptique.....	32
6.3 L'effet de l'exposition périnatale au mélange de substances toxiques et au MeHg sur le nombre de cellules gliales au niveau de l'hippocampe et de l'aire préoptique.....	34
6.4 Interaction entre les neurones et les astrocytes	36
6.5 Mécanisme expliquant le rôle des cellules gliales et l'effet des hormones sur ces cellules gliales ..	37
6.6 Les limites.....	39
Chapitre 7: Une approche interdisciplinaire	41
7.1 Une vision épidémiologique	42
7.2 Politiques et régulations environnementales.....	44
7.3 Une vision nutritionnelle	45
7.4 Une vision de prévention en santé	48
Chapitre 8: Conclusion	50
Annexe 1	52
Implantations utérines et Nourrissons vivants.....	52
Distributions des sexes	53
Références	59

Abstract

L'exposition à un mélange de contaminants durant la grossesse et la période post-partum contribue à des problèmes de santé neurologiques chez les nouveau-nés. Que ce soit les biphényles polychlorés, le méthylmercure ou les composées organochlorées, ils ont tous des effets néfastes lors d'une exposition individuelle. Notre étude s'intéresse à un mélange qui correspond aux concentrations de quelques contaminants présents dans le sang maternel des populations nordiques.

Dans les études concernant ce mélange de contaminant, les auteurs ont démontré des altérations au niveau de la croissance ainsi qu'un changement du poids des organes chez les nourrissons. Par contre, les effets de l'exposition à un tel mélange lors de la période périnatale sur la structure cérébrale des mères post-partum ne sont pas connus.

L'objectif de ce travail est donc d'évaluer les changements morphologiques associés à la grossesse, suite à l'exposition chronique à un mélange de contaminants environnementaux lors de la grossesse dans un modèle animal et d'explorer les effets de ceux-ci sur la plasticité du cerveau post-partum.

Les rats femelles de souche Sprague–Dawley ont été accouplés avec un mâle pour obtenir au moins 10 portées par traitement. Dès la détection de grossesse, ces rats ont été assignés aléatoirement à un groupe de traitement : Dose élevée ou basse du mélange, dose élevée ou basse du méthylmercure ou le groupe témoin. L'administration de la dose des contaminants des femelles s'est fait avec un biscuit Teddy Graham. Celui-ci a commencé la première journée de gestation jusqu'à la journée 21 postnatale. Au 21 ième jour, les mères ont été sacrifiées et leurs cerveaux fixés et coupés pour ensuite subir soit une coloration NISSL ou immunohistochimie pour le marqueur de protéine acide fibrillaire gliale (GFAP). Ceci nous a permis d'étudier le nombre de neurones et de cellules gliales dans les régions du cerveau important au comportement maternel.

Une augmentation significative du nombre de cellules gliales a été observée au niveau de CA3 avec l'exposition aux doses élevées du méthylmercure, et les deux doses du mélange ainsi qu'au niveau de l'aire préoptique médiane (MPOA) uniquement avec la dose élevée du mélange de contaminants. Quant aux neurones, une augmentation a uniquement été observée au CA3 avec la dose élevée du méthylmercure, et les deux doses du mélange. Malgré que plus de recherches soient nécessaires pour mieux comprendre les effets d'une telle exposition sur le comportement maternel, ces découvertes suggèrent que le mélange de contaminant est capable d'affecter le cerveau maternel.

Exposure to a mixture of contaminants during pregnancy and the post-partum period has been shown to contribute to neurological problems in newborns. Whether it is polychlorinated biphenyls, methylmercury or organochlorine compounds, they all have effects when administered individually. Our study focuses on a mixture that corresponds to the concentration of these contaminants present in the maternal blood of Northern populations. Previous studies using this contaminant mixture show altered growth and a change in organ weights in offspring exposed *in utero*. However, the effects of exposure to such a mixture during the perinatal period, on the cerebral structure of mothers during the post-partum period remains unknown. The aim of this project was to assess morphological changes in pregnancy associated with gestational exposure to the toxicant mixture in an animal model. Additionally, we wanted to investigate the effects of this exposure on plasticity of the post-partum maternal brain.

Female Sprague-Dawley rats were mated with a male to obtain at least 10 litters per postnatal treatment. Upon detection of pregnancy, the females were randomly assigned to a treatment group: high or low dose mixture, high or low dose methylmercury, or vehicle. Females were dosed using a Teddy Graham cracker starting on the first day of gestation until postnatal day 21. At this time, the dams were sacrificed, and the brain fixed then sectioned for NISSL staining and immunohistochemistry. This allowed us to study the number of neurons and glial cells in brain areas important for maternal behavior. A significant increase in the number of glial cells was observed in the CA3 following exposure to the high dose of methylmercury and both doses of the mixture as well as in the MPOA with the high dose of the mixture only. We also found a

significant increase in the number of neurons in the CA3 following exposure to the high dose of methylmercury and both doses of the mixture. While additional research is needed to help characterize the effects of these contaminants on maternal behavior, our findings suggest that the contaminant mixture is capable of affecting the maternal brain.

Abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ARN : Acide Ribonucléique

BAL : Amygdale Basolatéral

BPC : Biphényle Polychlorés

BST : Noyau de la Strie Terminale

CA : Cornu Ammonis;

CCME Conseil Canadien des Ministres de l'Environnement (CCME)

CE : Cortex Entorhinal (CE)

CNS : Système Nerveux Central

DAB : 3,3'-diaminobenzidine

DG : Gyrus Dentelé

GD : Journée de Gestation

GFAP : Protéine Acide Fibrillaire Gliale

LDL : Lipoprotéine à Basse Densité

MeHg : Méthylmercure

MPOA : Aire Préoptique Médiane

NCM : Northern Contaminant Mixture

PDN : Journée Postnatale

SE : Sélénium

Notre intérêt pour ce projet est d'évaluer si les contaminants ont un effet sur le cerveau des femmes lorsqu'exposées lors de la grossesse et lors de leur période post-partum sachant que la littérature offre très peu d'information concernant les changements cérébraux lors de cette période importante de leur vie.

Chapitre 1: Introduction

1.1 Rationnel

Les contaminants environnementaux font le sujet de multiples recherches depuis plus d'un demi-siècle. Dès 1948, avec l'inauguration de l'institut de la médecine environnementale, l'étude de la toxicité de ces contaminants a commencé à prendre forme. Au début, l'intérêt était surtout centré sur la poussière ainsi que les produits chimiques dans les milieux de travail. À la suite de plusieurs désastres reliés à la pollution environnementale telle qu'à Donora et Londres, beaucoup de recherches visaient ensuite à faire l'association entre la mortalité et la pollution environnementale. (Dockery et al., 1993). Depuis, de plus en plus d'études mettent l'emphase sur le lien entre les effets néfastes sur la santé et l'exposition aux contaminants environnementaux. (Marshall et al., 2002).

De multiples recherches étudient les effets néfastes physiologiques d'uniquement un seul contaminant à la fois. Un contaminant fréquemment étudié est le méthylmercure (MeHg); par exemple, on a retrouvé qu'une exposition au MeHg induit une réponse atypique des astrocytes mise en culture (Malfa et al., 2014). Le MeHg n'est pas le seul contaminant étudié de façon seul, en effet, le biphényle polychlorés (BPC) en sont une autre catégorie d'intérêt; il existe une importante corrélation entre les BPC congénère 95 et l'altération du système endocrinien (Ahmed., 2013). Ces études servent d'exemples d'études qui apparaissent typiquement en toxicologie, d'où l'on étudie l'effet d'un contaminant à la fois.

Par contre, celles-ci restent loin d'être des études qui reproduisent la réalité sachant qu'elles ne prennent pas en considération la présence de multiples contaminants – condition à laquelle sont exposés les humains, qui, en combinaison pourraient agir différemment sur la santé. Tout de

même, il existe quelques recherches qui étudient les effets des mélanges de contaminants sur la santé. Les pesticides organochlorés par exemple sont des polluants organiques persistants (POP) ayant des effets sur l'expression génétique telle qu'une régulation négative du gène suppresseur de tumeur, ainsi que sur le développement embryonnaire et des maladies immunitaires (Mitra et al., 2012). Un autre exemple est le mélange de multiples BPC et di (2-ethylhexyl) phthalate et leur influence sur l'inhibition de la phospholipase chez la souris, enzyme nécessaire pour hydrolyser les phospholipides dans le foie vers leur élimination. (Lin et al., 2013).

La présente étude dérive des connaissances récentes de contaminants mesurés chez des populations nordiques. Le mélange de contaminants qui nous intéresse est le Northern contaminant mixture (NCM) - celui-ci correspond aux concentrations de contaminants présents dans le sang maternel de ces populations nordiques (Bowers et al., 2004; Chu et al., 2008). La grande majorité des études basées sur des modèles animales (des rats) mettent l'emphase sur les changements et les altérations observés chez les jeunes ou nourrissons suite à une exposition indirecte *in utero*. Un exemple d'une mesure chez les jeunes est l'altération de la géométrie des os qui peut être un risque de santé très important (Elabbas et al., 2011). D'autres altérations rapportées suite à l'exposition au mélange NCM sont le retard de croissance, le changement de morphologie de la glande thyroïdienne, ainsi que l'altération de l'expression protéique et plus spécifiquement modification post-traductionnelle dans l'hippocampe et le cervelet (Pelletier et al., 2009 ; Chu et al., 2008 ; Padhi et al., 2008). Dans la présente étude, notre intérêt diffère un peu. Nous voulons donc voir les effets de ce mélange de contaminants, sur le cerveau des femelles lorsqu'elles sont exposées lors de la grossesse et la période d'allaitement, une période de plasticité accrue du cerveau.

1.2 Objectifs

1. Évaluer les changements morphologiques associés à la grossesse, nombre de nourrissons et distribution des sexes, suite à l'exposition chronique à un mélange de contaminants et au méthylmercure à deux concentrations distinctes lors de la grossesse dans un modèle animal.

2. Explorer les changements à la plasticité du cerveau post-partum, en ce qui est du nombre de neurones et cellules gliales, suite à une exposition chronique à un mélange de contaminants et au méthylmercure à deux concentrations distinctes lors de la grossesse et l'allaitement.

1.3 Questions de recherche et hypothèse

Nos questions de recherche :

1. Quels sont les effets de l'exposition à un mélange de contaminants environnementaux et aux méthylmercure à deux concentrations distinctes sur le taux de survie des nourrissons et la distribution des sexes dans un modèle animal ?
2. Quels sont les effets de l'exposition à un mélange de contaminants environnementaux et aux méthylmercure à deux concentrations distinctes sur le cerveau des mères post-partum dans un modèle animal?

1.4 Retombés du projet

Le mélange de contaminants environnementaux étudié est dérivé du profil sanguin des populations nordiques. L'étude des effets d'un tel mélange sur les cerveaux post-partum à la suite d'une exposition durant la grossesse et durant la période d'allaitement offre une opportunité de comprendre les effets d'une telle exposition sur un segment de la population peu étudié.

Une mise en évidence de tout effet d'un tel mélange, à différentes concentrations, sur la neuroanatomie du cerveau post-partum est très significative. En effet, à notre connaissance, ceci est la première étude qui évalue les effets d'un mélange de contaminants, d'une importance écologique, sur le cerveau post-partum.

Par conséquent, de nombreuses opportunités de recherche se présentent pour déterminer s'il existe ou pas des effets sur la neuroanatomie du cerveau post-partum. Premièrement, l'étude des

mécanismes sous-jacents qui expliquent les changements neuro-anatomiques ainsi que les changements au niveau fonctionnel nous semble primordial. Dans le cas d'absence d'effet neuroanatomique, il sera nécessaire d'étudier d'autres concentrations afin de discerner avec plus de précision les effets d'un tel mélange à ces concentrations. Finalement, investiguer la corrélation entre les changements neuro-anatomiques au niveau du cerveau durant la période post-partum et les changements comportementaux ainsi que les effets de ces changements comportementaux potentiels sur le développement des nourrissons. Par ailleurs, ceci nous amène à poser des questions à l'égard des régulations environnementales actuelles ainsi que la proposition de régulations potentielles afin d'éliminer et de limiter l'exposition à ces contaminants.

Chapitre 2: Neuroanatomie et Physiologie

2.1 Neuroanatomie

De nombreuses régions du cerveau influencent d'une manière directe ou indirecte les comportements maternels. Parmi les composantes majeures du comportement maternel chez les rats sont les comportements de récupération des nourrissons, d'allaitement, de nettoyage des nourrissons et finalement de construction de nids. (Numan et al., 2003). Un comportement tel que le comportement de récupération est régulé directement par l'aire préoptique médiane (MPOA) ainsi que le noyau de la strie terminale (BST). Des hormones telles que les estradiols et les prolactines ainsi que des neuropeptides telles que l'ocytocine agissent sur leur récepteur dans le MPOA qui, par des connexions ultérieures avec d'autres régions, stimulent les comportements maternels. (Rosenblatt et al., 1996)

Les neurones de l'amygdale basolatérale (BAL) sont aussi essentiels pour l'expression normale des réponses maternelles telles que le comportement de la récupération au niveau des rats durant la période post-partum. (Numan et al., 2010) Toute lésion au niveau de l'amygdale chez les rongeurs, démontre soit un cannibalisme envers les nourrissons ou une réduction importante des comportements maternels. Tel qu'indiqué auparavant, le BST est aussi une structure importante dans la régulation du comportement maternel. En effet, toute lésion au niveau du BST reproduit les mêmes effets observés lors des lésions de l'amygdale sur le comportement maternel sans la reproduction du cannibalisme. (Numan et al., 1974) (Numan et al., 1977)

Par conséquent, le MPOA est une région d'importance pour le comportement maternel. En effet, toute lésion de cette région perturbe directement le comportement maternel continu des rattees allaitantes tel que le comportement de récupération (Numan., 2014). Plus spécifiquement, à la suite d'une lésion du MPOA, durant la période post-partum, on observe un déficit des comportements maternels. (Arrati et al., 2006).

L'hippocampe est une structure importante pour la mémoire à long terme et l'apprentissage. De nombreuses recherches supportent l'idée que l'hippocampe joue un rôle essentiel dans le traitement de la mémoire relationnelle, spatiale et spatio-temporelle. En effet, les rats sans leur

hippocampe sont incapables de réaliser les tâches qui nécessitent l'utilisation de l'information spatiale et contextuelle (Nicola et al., 2004).

Effectivement, l'altération du nombre d'astrocytes et de neurones au niveau du MPOA, du CA1 ou encore du CA3 peut donc mener à des changements comportementaux chez les mères durant la période post-partum. (Keyser-Marcus et al., 2001) Ces changements comportementaux affectent surtout la qualité des soins maternels que les mères porteront à leurs jeunes. (Champagne et al., 2003); de plus, tout changement affectant le comportement maternel envers les nouveau-nés peut influencer le comportement et le développement même des nourrissons (Nakagami et al., 2009).

Sachant que c'est le nombre d'astrocyte et de neurones au niveau de l'hypothalamus qui est corrélé à des altérations comportementales post-partum (Featherstone et al., 2000), la surveillance de la plasticité cérébrale par l'altération des marqueurs GFAP et NEUN devient une variable intéressante. Cette altération comportementale souligne l'importance du rôle joué par les astrocytes et les neurones. De plus, nous observons les deux types de cellules nerveuses dues à leur rôle inter-relié. En effet, les astrocytes secrètent un grand nombre de facteurs neurotrophiques qui permettent la survie ainsi que la régénération des neurones. (Nicholls et al., 1993). Par conséquent, la variation du nombre de ces cellules au niveau de l'hypothalamus pourrait donc avoir un impact sur les neurones et par conséquent sur le comportement maternel (Featherstone et al., 2000). Toutes ces régions du cerveau influencent directement ou indirectement le comportement maternel. Par conséquent, toute exposition aux différents contaminants environnementaux est capable, en théorie, d'affecter la structure et l'anatomie du cerveau qui peut se traduire par une altération fonctionnelle (Febo et al., 2011).

2.1.1 Hippocampe

L'hippocampe occupe une large partie du cerveau antérieur. Il est uniquement visible si on enlève le néocortex postérieur et temporal. L'hippocampe est divisé en deux secteurs enclenchés sous forme de U de côté, le fascia dentata (l'aire dentata et le gyrus dentelé) et l'hippocampe propre. Ce dernier a longtemps été sujet de multiples suggestions de description selon différentes manières. Premièrement, au début du 20ème siècle, une division de l'hippocampe a été suggérée

selon la morphologie des différentes cellules et les fibres de projection de Cajal (1911). Blackstad quant à lui, a proposé de diviser l'hippocampe en région supérieure et région inférieure (1956). Finalement en 1934, propose une troisième méthode de division. (David G et al., 2007) Il divise l'hippocampe en 2 régions, le gyrus denté et l'hippocampe propre qui à son tour est divisé en 4 régions microscopiques de CA1 à 4. Par la suite, il a nommé la région supérieure CA1, la région inférieure qui se divise en 2 régions, soit le CA2 et CA3. Finalement, pour le CA4, ce dernier désigne les cellules éparpillées au niveau du fascia dentata. (David G et al., 2007)

Avec l'exception du CA4, nous observons qu'il existe un modèle de base semblable au niveau de toutes les sections de l'hippocampe. Une série arrangée de larges neurones est observée au niveau de l'hippocampe avec les corps cellulaires tous englobés au niveau d'une seule couche et avec les dendrites se dirigeant vers la même direction. Ces neurones sont les grands neurones pyramidaux au niveau du CA3, et les petits pyramidaux au niveau du CA1 et finalement les neurones granulaires dans le DG. La complexité de l'anatomie de cette région ainsi que les couches cellulaires ordonnées rendent cette dernière une région idéale pour l'étude et l'évaluation des fonctions de l'hippocampe. Ceux-ci ont été le sujet de multiples recherches qui suggèrent que l'hippocampe est essentiel pour le codage rapide ainsi que le stockage de ces nouvelles mémoires. En effet, de nombreuses études démontrent clairement qu'il existe une relation importante entre la mémoire, l'apprentissage, le comportement maternel et l'hippocampe. (Jarrard et al., 1993)

En tant que son rôle dans le comportement maternel, la région du CA3 de l'hippocampe est importante au niveau de la régulation de ce comportement sachant qu'une réduction du nombre d'astrocytes est associée à des changements comportementaux tels que les comportements dépressifs et le stress social. (Fuchs et al., 2005). Similairement au CA3, le CA1 est une autre région de l'hippocampe qui joue un rôle important dans le comportement dépressif. En effet, ce comportement se caractérise lui aussi par une diminution du nombre de cellules gliales au niveau du CA1 et par conséquent une diminution de la taille de l'hippocampe en général. (Murray et al., 1996) De nombreux symptômes et comportements peuvent affecter les femmes souffrant de dépression post-partum telle qu'un manque de concentration ; une incapacité de s'attacher au bébé, une incapacité de dormir (National institute of Mental Health., n.d.) La dépression post-

partum peut à son tour affecter le neurodéveloppement chez les nouveau-nés. (Murray et al., 1996)

Le comportement maternel n'est pas la seule fonction affectée par les altérations au niveau de l'hippocampe. En effet, une lésion bilatérale de l'hippocampe résulte en amnésie c'est-à-dire une incapacité d'apprendre de nouvelles informations. (Hayman et al., 1998) D'autres études se basent sur les déficiences observées au niveau de la mémoire par la suite d'endommagement au niveau de l'hippocampe. Ces études ont été réalisées sur différents modèles animaux telles que les singes, les rats et les souris. L'endommagement et les facteurs de stress au niveau de cette région affectent considérablement la performance de ces animaux à l'égard des actes d'apprentissage et de mémoire. Plus précisément, les fonctions des neurones pyramidaux diffèrent de ceux des neurones granulaires au niveau de l'hippocampe. Pour le CA1 et le CA3, il permet de traiter les signaux moteur et sensoriel obtenus par cortex entorhinal. Quant aux cellules du DG, celle-ci fait partie de la formation de la mémoire spatiale. (Xavier et al., 2009)

De plus, durant la période périnatale, l'hippocampe subit un développement extensif relié à la neurogénèse, la maturation des neurones et les connexions synaptiques. (Super et al., 1994) À cause du développement très rapide, les nouveau-nés deviennent extrêmement susceptibles aux situations stressantes ou encore aux contaminants environnementaux. (Tottenham et al., 2009). A la suite d'un stress maternel durant la grossesse, il existe une augmentation du risque d'un mauvais développement comportemental et émotif chez les nouveau-nés. D'après le Avon Longitudinal Study of Parents and Children, le stress maternel est relié avec des perturbations comportementales et émotionnelles chez des enfants de 4 à 7ans (Emack et al., 2008). De plus, une privation maternelle produit des changements structuraux au cerveau ainsi qu'une diminution du nombre de synapses au niveau de la région du CA1 et CA3 de l'hippocampe. (Karakas et al., 2009) Il faut donc considérer que peut-être la qualité des comportements maternels peuvent changer due à l'exposition aux contaminants et leur effet potentiel sur le cerveau de la mère enceinte. Par conséquent, dans notre modèle l'exposition indirecte des jeunes à un mélange de contaminants comme le NCM peut influencer leur développement neurologique (voir schéma 1).

2.1.2 Aire préoptique médiane (MPOA)

L'aire préoptique est une structure hétérogène au niveau de l'hypothalamus rostral entre la commissure antérieure et le chiasme optique. Cette région est idéalement divisée en deux sous-régions majeures, la région médiane et l'aire préoptique latérale. (Will., 2016) La différence anatomique majeure entre les deux régions est la présence de noyaux sexuellement dimorphe au niveau de l'aire préoptique d'une grosseur beaucoup plus importante chez les rats mâles que femelles. (Dohler et al., 1984) La littérature indique que l'aire préoptique médiane joue un rôle important dans la régulation de la maintenance du comportement maternel. De nombreux neurones dans l'aire préoptique ont des récepteurs d'androgène et d'œstrogène qui sont importants pour initier le comportement sexuel chez les animaux (Hull et al., 2007). De même, d'autres articles indiquent que le MPOA participe dans la réponse des rats femelle aux contaminants, tout de même le mécanisme à travers lequel la région MPOA module la réponse demeure peu clair (Branchi et al., 2013). D'autres recherches supposent que la différence dans le nombre d'astrocytes de GFAP+ au niveau de la région du MPOA peut affecter la variabilité au niveau du comportement sexuel (Will et al., 2014). Cette supposition est basée sur le fait que les astrocytes modulent la disponibilité du glutamate neuronal. (Will et al., 2014) Une évaluation du nombre de neurones et d'astrocytes au niveau de la région du MPOA pourra nous révéler une partie du mécanisme sous-jacent du changement de comportement à la suite d'une exposition à un contaminant.

2.2 Grossesse et période post-partum

La grossesse demeure une période très vulnérable pour les femmes face au stress, la dépression et beaucoup d'autres maladies. (Fleming et al., 1997). Durant la grossesse chez les femmes, la taille du cerveau diminue en terme de volume ce qui coïncide avec une diminution des fonctions cognitives. (Oatridge et al., 2002) Quant à la grossesse chez les rongeurs, elle est associée à des altérations au niveau de l'hippocampe et une amélioration cognitive (Workman et al., 2012)(Kinsley et al., 2008) qui coïncide avec une augmentation de l'activité immunoréactive du GFAP et la complexité des astrocytes. (Kinsley et al., 1998) Quant à la présence du stress durant la grossesse, elle est associée à une diminution du nombre de neurones au niveau du CA3 ainsi que l'altération de leur morphologie. Plus spécifiquement, elle est associée à une atrophie des cellules dendritiques au niveau du CA3. (Stern et al., 1993). Même avec l'absence du stress, l'hippocampe est victime de nombreuses altérations au niveau neuro-anatomique afin de réguler et de préparer les mères aux soins maternels. Par exemple, une augmentation de la densité

neuronale au niveau du CA1 et CA3 a été fréquemment observée durant les périodes de grossesses. (Frankfurt et al., 2011) En effet, en présence de ces facteurs, les résultats d'études de modèle animal suggèrent des changements structuraux au niveau des cerveaux maternels durant la période post-partum, plus spécifiquement au niveau de l'hypothalamus, l'amygdale ainsi que l'aire préoptique médiane. Ces altérations affectant la population neuronale et gliale de ces structures, ont été corrélées à des changements comportementaux chez la mère (Kim et al., 2015), par exemple, l'altération des soins maternels destinés aux nouveau-nées, et ceci lors de développement critique. Ceci pourrait avoir des conséquences à long terme sur l'état neurobiologique, émotionnel et cognitif du nouveau-né (Société canadienne de pédiatrie., 2004). En effet, chez les rats, tout nouveau-né est incapable de survivre sans la dépendance des soins maternels qui leur permettent de croître et de survivre. (Numan et al., 2003). Un large spectre de soins maternels est observable dépendamment de l'espèce. Parmi ces soins, chez les rongeurs, nous observons la construction et la protection des habitats pour les jeunes grâce à la construction de nid, mais aussi en démontrant un caractère agressif à l'égard de tout inconnu approchant ce nid.(Moses-Kolko et al., 2011) Nous observons aussi la manifestation affective et fonctionnelle qui se traduit par la lèche des petits. Ceci explique donc notre intérêt à explorer le mécanisme derrière la motivation maternelle et non pas le mécanisme de chacun de ces actes (Numan et al., 2006).

La littérature souligne l'importance des hormones durant la grossesse et leur rôle dans la motivation maternelle. Tout de même, ceci ne paraît pas être le cas durant la période post-partum. En effet, durant cette période, le rôle des hormones tel que l'œstrogène et prolactine est très limité dû à leur sécrétion presque absente. Par conséquent, on note que la motivation maternelle provient de l'interaction avec leurs petits. En effet, une fois les rats interagissent avec leurs petits, la réponse maternelle prend place et est régulé par un circuit neuronal dont l'aire préoptique médiane occupe un rôle crucial. (Saltzman et al., 2014), (Numan et al., 2003). Effectivement, de nombreuses études soulignent l'importance de l'aire préoptique médiane ainsi que le reste de l'hypothalamus à l'égard des soins maternels du nouveau-née. Par exemple, toute altération au niveau de l'aire préoptique médiane affecte la motivation maternelle.

Plus spécifiquement, la détermination et l'attribution d'un rôle ou d'un comportement à un ensemble de neurones se réalisent grâce à une technique de lésion. En effet, la lésion précise de

l'aire pré-optique médiane et donc des faisceaux neuronaux qui en découlent démontre une altération au niveau des soins maternels tels que la récupération des petits et la construction de nid. (Oxley et al., 2000) Par conséquent, les changements des soins maternels proviennent des neurones de la région préoptique médiane et non pas des effets secondaires du système neuroendocrinien. De plus, nous notons qu'après le dommage de l'aire préoptique médiane, les rats maternels sont incapables de sauver leur petit durant les périodes de danger (Pareira et al., 2010) Ceci n'est pas dû à une incapacité physique ou motrice, mais plutôt à un manque de réaction maternelle. En effet, la lésion au niveau de l'aire préoptique médiane endommage tous les soins maternels et surtout la récupération des petits. (Numan et al., 1988) Contrairement à la lésion de cette région, la stimulation électrique de la région préoptique médiane augmente la réponse maternelle, mais tous les neurones ne participent pas forcément à la régulation du comportement maternelle. (Morgan et al., 1999) Cette période gestationnelle est une période très délicate pour la santé maternelle et fœtale surtout que ces derniers sont extrêmement vulnérables aux expositions environnementales.

2.3 Les mécanismes de mémoire et de réponses maternelles

L'hippocampe propre qui est formé des 3 régions du cornu ammonis (CA1, 2 et 3) ainsi que le dentate gyrus (DG) a un rôle bien établi dans le processus cognitif. En effet, la formation de la mémoire dépend principalement des caractéristiques anatomiques remarquables de cette région.

Contrairement aux connectivités réciproques de la plupart des structures corticales, l'hippocampe est caractérisé par un passage unidirectionnel de l'information par le circuit.

Avant l'arrivée de l'information sensorielle au niveau de l'hippocampe, cette dernière doit arriver d'une manière organisée par le réseau néocortical. Une fois les récepteurs sensoriels stimulés, ils sont suivis par une information assez analysée pour arriver au cortex entorhinal et plus spécifiquement à la deuxième et troisième couche superficielle. (Andersen et al., 2007) (Teyler et al., 2007)

Le cortex entorhinal est considéré comme étant la première station d'information qui analyse l'information dans la formation de l'hippocampe. (Witter et al., 1989). Ceci est observé grâce à l'observation que ce sont les couches superficielles qui vont offrir la contribution principale

pour l'hippocampe, alors que les couches les plus profondes représentent la destination principale de l'information qui retourne du CA1 de l'hippocampe et du subiculum. (Leutgeb et al., 2004) (Leutgeb et al., 2005) Plus spécifiquement, les couches 4 et 5 de neurones vont projeter à des couches superficielles tel que les couches 2 et 3. (Insausti et al., 1997)

Il existe deux routes de circulation d'information à travers l'hippocampe. Le premier est d'une manière indirecte dont on appelle le circuit trisynaptique au niveau duquel l'information primaire se déplace de la deuxième couche du cortex entorhinal pour se projeter au niveau du DG, du CA3 et du CA2. (Teyler et al., 2007) En effet, les axones fournissent un apport synaptique au niveau des cellules granulaires du DG, qui à leur tour excite les fibres mousseuses et les cellules pyramidales de la région du CA3. (Lorente et al., 1934) L'information sera envoyée par le Schaffer collatérale aux cellules pyramidales qui à la suite vont projeter au subiculum et ensuite aux couches profondes du cortex entorhinal. (Ramon et al., 1995) (Andersen et al., 1971) Les réponses trisynaptiques sont enregistrées au niveau du CA1 à la suite de la stimulation de la voie perforante. (Andersen et al., 1966) (Herreras et al., 1987); toutes les projections sont glutaminergique et excitatrices.

La deuxième voie pour la circulation de l'information vers l'hippocampe émerge de la troisième couche de neurone qui vont projeter par les circuits temporo-ammoniques. (Brown et al., 1990) C'est la circulation directe grâce à la connexion monosynaptique entre la troisième couche entorhinal et la région dendritique distale du CA1 de l'hippocampe. En effet, ce circuit va éviter les deux premières étapes du circuit conventionnel. Cette projection temporo-ammonique commence, au niveau du lobe temporal et termine au niveau du CA1 de l'hippocampe. (Andersen et al., 1966) Due à des connexions organisées et réciproques entre l'hippocampe et les régions adjacentes associées. l'information qui est initialement tamponnée au niveau de l'hippocampe (DG, CA1 et CA3) peut être transférée au néocortex pour l'entrepôt à long terme. (Teyler et al., 2007) (Nakashiba et al., 2008)

2.4 Choix du modèle animal

Le rat est un modèle animal souvent utilisé pour les études portant sur la physiologie, la pharmacologie, la toxicologie, la nutrition, ainsi que la science comportementale. (Jacob et al., 1999) Ce choix s'explique par la taille de l'animal, la facilité de sa manipulation, et les caractéristiques de sa reproduction. (Iannaccone et al., 2009)

Pour les maladies dites humaines, le rat offre un meilleur modèle que la souris et les autres organismes. Il est un excellent modèle dans le cas des maladies cardiovasculaires telles que l'hypertension et les accidents vasculaires; il y a une facilité de surveiller les rats d'une manière physiologique, sachant que la base de données concernant les rats est beaucoup plus grande que celle de la souris. De plus, dans plusieurs situations, la physiologie du rat est plus similaire à celle de l'être humain. (Pfeffer et al., 1979)

Quant à leurs comportements, ils sont partiellement hérités et peuvent être modifiés à un certain niveau par l'apprentissage et l'adaptation à différentes conditions environnementales. Par conséquent, ceci rend le rat un bon modèle d'étude des principes de base des comportements. (Classen et al., 2000) Plus spécifiquement en ce qui a trait à la cognition et la mémoire, la rat demeure le modèle à utiliser non seulement à la ressemblance de son système d'apprentissage et de mémoire avec celui de l'être humain, mais surtout dû au grand nombre d'études précédemment réalisées avec le rat à ce sujet. Celles-ci ne sont pas les seules raisons du choix du rat sachant que même la taille de cet animal le favorise sur les autres. En effet, la taille de ses organes est proportionnelle à ceux de l'être humain. On est donc capable d'étudier les effets sur les différentes régions des organes, mais aussi on est capable de répliquer les distances d'administration des drogues. (Iannaccone et al., 2009)

Quant à l'effet des agents environnementaux tel que les contaminants, le stress, la diète ou même l'activation immunitaire, nous observons une similarité très claire entre les rats et l'être humain . (Iannaccone et al., 2009) Le fait que le rat soit devenu le modèle standard pour les études physiologiques et toxicologiques est une autre raison qui supporte l'utilisation de celui-ci comme modèle animal dans les études du domaine toxicologique. (Aitman et al., 2008)

L'hippocampe ainsi que l'anatomie du reste des régions du cerveau de rat offrent une illustration importante de ces régions due à la similarité de la neuroanatomie ainsi que leurs fonctions avec les être humains. Par conséquent, dû à un code d'éthique plus permissif, les études réalisées sur les rats vont permettre une meilleure compréhension de l'organisation de la mémoire de l'être humain. (Clark et al., 2013).

De plus, avec une espérance de vie de 2 ans et une grossesse d'environ 22 jours, l'étude de la plasticité du cerveau maternel devient possible. Ceci va permettre la compréhension des mécanismes sous-jacents qui sont considérés importants pour la compréhension du comportement maternel ainsi que la plasticité qui s'y relie. (Champagne et al., 2016)

2.5 Biomarqueurs

Les biomarqueurs sont des indicateurs de changement d'un processus, d'une structure ou d'une fonction mesurée au niveau de l'organisme, de variation moléculaire ou cellulaire, ou d'un statut biologique normal ou altéré au niveau du sang ou des tissus. (Strimbu et al., 2010) La compréhension du processus, des structures et des fonctions du système nerveux est le point de départ pour l'identification du biomarqueur convenable. L'intérêt grandissant à l'usage des biomarqueurs provient du désir d'identifier les étapes préliminaires de la détérioration et dommage du système nerveux, ainsi que la dynamique d'exposition et les mécanismes de réponse face à ces expositions à des contaminants. (Jain et al., 2017) Cet intérêt est présent dans le domaine de la médecine clinique, l'épidémiologie, la toxicologie et les domaines biomédicaux ce qui permet d'étudier les effets neurologiques des expositions des contaminants environnementaux. En effet, l'utilisation d'un grand nombre de biomarqueurs d'une manière extensive dans le domaine de neurotoxicologie sert d'outil pour aider à déterminer et quantifier les changements physiologiques. (Who., 1993) Parmi les biomarqueurs nous trouvons ceux pour identifier des protéines, des acides nucléiques, des lipides et des ions qui nous offrent un moyen peu cher, rapide et objectif afin de mesurer les changements moléculaires et cellulaires.

Dans cette étude, nous avons entamé une évaluation histologique du cerveau des mères exposées

à un mélange de contaminants lors de leur grossesse et immédiatement post-partum. Le biomarqueur utilisé dans cette étude est le GFAP pour identifier les astrocytes matures, qui est marqué en utilisant l'anticorps au GFAP

2.5.1 GFAP

La méthode principale pour l'identification des astrocytes est l'immunohistochimie avec l'utilisation des anticorps qui réagiront contre la protéine acide

fibrillaire gliale (GFAP) (Wilkinet al., 1990). Cette dernière est un filament intermédiaire présent dans le corps cellulaire de tous les astrocytes. (Eng et al., 1985) Des recherches plus récentes indiquent que de nombreux astrocytes matures au niveau du CNS n'expriment pas nécessairement des niveaux détectables de GFAP. (Sofroniew et al., 2009) Les astrocytes matures sont essentiels pour la formation et le fonctionnement des synapses en libérant des signaux moléculaires.(Powell et al., 1999) L'utilisation d'une telle technique nous permet d'évaluer d'une manière qualitative et quantitative la distribution et le nombre d'astrocytes dans les régions d'intérêt. Ceci nous permet donc de comprendre les conséquences de l'altération du nombre d'astrocytes ainsi que d'essayer d'identifier les mécanismes responsables pour ces changements. De plus, nous pourrions essayer éventuellement de corréler de tels changements neuroanatomiques à des changements comportementaux.

2.5.2 Nissl

La méthode histologique inventée par NISSL est largement utilisée afin d'étudier la morphologie et la pathologie des neurones au niveau de différentes régions du cerveau. La coloration NISSL est basée sur l'interaction des différents colorants tels que le Crésyl violet, la thionine, le bleu de toluidine ou le bleu de méthylène avec l'acide nucléique des cellules. Ces colorants sont capables de s'attacher à l'ADN présent au niveau du noyau de la cellule ainsi que l'ARN concentré au niveau du réticulum endoplasmique et des ribosomes du cytoplasme. Sachant que les neurones sont des cellules très actives dans la synthèse de protéines, leur cytoplasme est riche en réticulum endoplasmique. Dû à cette caractéristique, le Nissl est capable de colorer spécifiquement le cytoplasme des neurones mais aussi toutes les cellules du système nerveux. (Zilmer et al., 2008). Ceci est un avantage de la coloration de Nissl comparé aux autres méthodes sachant qu'on peut détecter la distribution des corps cellulaires au niveau des régions spécifiques du cerveau (Bear et al., 2007) et étudier les cellules dans des conditions normales ou pathologiques. (Zilmer et al., 2008) Par conséquent, la coloration NISSL est une méthode extrêmement utile afin d'étudier la pathologie des neurones. Parmi les colorations les plus utilisées, une solution de Crésyl violet acétate est utilisée pour colorer la substance NISSL dans le cytoplasme des cellules, y compris les neurones, dans les tissus fixés avec le formol (Sullivan et al., 2013)

Chapitre 3 : Exposition aux Contaminants

3.1 Les contaminants et le cerveau

Les neurocontaminants interfèrent avec l'expression génétique, potentiellement en forme d'expression protéique mais aussi d'autres molécules structurales au niveau du cerveau. Par conséquent, l'exposition périnatale aux substances toxiques mène à des perturbations au niveau développemental du cerveau. Les deux conditions peuvent mener à une pathologie qui se manifesterait immédiatement ou plus tard dans la vie.

L'influence environnementale peut être positive ou négative sachant que les contaminants ont une capacité importante de changer le cerveau lors de son développement. En effet, les contaminants comme tout autre stress ou stimulus, ont une connotation négative qui requière une réponse allostatique afin d'assurer que l'organisme s'adapte à l'environnement changeant. Ces réponses allostatiques sont naturelles par le fait que le cerveau et le corps cherchent à protéger l'organe; ceci se fait souvent par des médiateurs qui permettent l'adaptation et démontre la résilience du cerveau. Ces médiateurs même, à la suite d'une déréglementation peuvent engendrer des réponses pathophysiologiques qui démontrent la vulnérabilité du cerveau. Cet équilibre entre la vulnérabilité et la résilience détermine donc comment les différentes conditions environnementales affectent le développement du cerveau. (McEwen et al., 2006)

Le cerveau immature est beaucoup plus vulnérable à l'exposition des contaminants que ceux des adultes principalement dû au fait que la barrière hémato-encéphalique est quasi inexistante chez les nouveau-nés; celle-ci n'atteint sa maturité que durant la première année de vie. Cette barrière, une fois mature, va permettre de restreindre l'entrée de beaucoup de produits chimiques dans le cerveau. Par contre, durant la grossesse, il y a une augmentation de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique de la mère due à l'augmentation des facteurs de croissance du placenta ou encore des cellules endothéliales (Schreurs et al., 2012). De plus, même durant sa maturité, plusieurs contaminants peuvent traverser la barrière hémato-encéphalique chez l'adulte, ce qui les rendent importants en ce qui est de la plasticité et l'endommagement du cerveau. Il existe donc de nombreux agents environnementaux qui peuvent affecter le cerveau. Nous trouvons parmi les contaminants chimiques des métaux lourds, le méthylmercure, BPC, et les composés

organochlorés (Aschner et al.,1989) (Schreurs et al., 2012)(Seelbach et al., 2010). Ces substances proviennent de nombreuses sources, telles que l'alimentation (par exemple le méthylmercure) ou encore les déchets chimiques présents au niveau des eaux, des plantes et des matériaux synthétiques. De plus, récemment, les êtres humains ont tendance à s'exposer d'une manière croissante à ces métaux lourds dus à leur utilisation dans le domaine industriel. (Bradl et al., 2002) Cette exposition est donc suivit par leur entrée dans le corps par le système digestif, l'absorption au niveau de la peau, l'inhalation par la respiration et même leur transmission au fœtus par leur traversée de la barrière placentale.

À des niveaux fréquemment mesurés dans l'environnement, les métaux lourds interfèrent avec le développement du cerveau, sa maturation, et donc son fonctionnement. Ces effets toxiques comprennent la perturbation de la migration des cellules neuronales ainsi que la formation de synapses (Klaassen et al., 1996). De plus, les métaux lourds interfèrent aussi avec les neurotransmetteurs qui sont responsables de toutes les fonctions du cerveau y inclus l'apprentissage, le contrôle d'émotion et les interactions sociales.

Parmi ces métaux lourds, le mercure est un des plus importants. Ce dernier perturbe le développement du cerveau en inhibant les enzymes importantes telles que l'acétylcholine , en changeant sa conformation. (Mirzoian et al., 2002) Les métaux lourds augmentent aussi la production de neurones et de cellules gliales. (Nriagu et al., 1990) Par conséquent, le degré de perturbation va dépendre de la concentration des contaminants ainsi que la période de vie durant laquelle l'exposition a eu lieu. (Rice et al., 2005)

3.2 Exposition aux Biphényles Polychlorés

Les biphényles polychlorés "BPC" sont constitués de près de 209 produits chimiques industriels qui ont été sur le marché nord-américain depuis 1929. Pour plusieurs décennies, ils ont été largement utilisés dans le secteur industriel. L'usage des BPC ainsi que leur élimination est réglementé depuis 1979 suite à de multiples inquiétudes concernant leurs effets sur la santé (Health Canada., 2005).

À cause de la stabilité et la bioaccumulation des BPC dans l'environnement, la population mondiale y est toujours exposée à petites doses malgré qu'ils ne sont plus produits depuis 1979. Cette exposition provient principalement de la nourriture. En effet de multiples recherches démontrent que les individus ayant des diètes riches en poisson et fruits de mer ont une concentration sanguine de BPC assez importante (Chevrier et al., 2013). La présence de ces contaminants dans le sang se trouve dans toute la population de façon disproportionnée. Des études ont démontré que la mère transmet ces contaminants à son fœtus tout au long de la grossesse. En effet, grâce à des modèles cellulaires, on a démontré le transfert des différents BPC à travers la barrière placentale (Correia et al., 2011). Même à la suite de l'accouchement, ces contaminants peuvent être transmis lors de l'allaitement, ce qui explique la haute concentration de BPC dans le sang des nouveau-nés (Mori et al., 2013). De plus que la concentration sanguine du BPC chez les nouveau-nés est élevée, nous pouvons observer plusieurs effets néfastes. Ces effets sont vus d'une manière beaucoup plus importante chez les jeunes que le reste de la population, probablement due à leur stade de croissance (Mori et al., 2013). En effet, on y voit des changements dans la densité des os, des perturbations neurologiques, et d'autres changements affectant la croissance (Hodgson et al., 2008). Par exemple, l'augmentation des niveaux de BPC a été corrélée avec l'augmentation de l'excrétion des hormones thyroïdiennes T3 et T4 chez les enfants (Radikova et al., 2008). Les nouveaux nés ne sont pas les seuls à être affectés par l'exposition au BPC, effectivement de multiples effets se manifestent chez les mères enceintes. Les résultats de quelques recherches indiquent que les BPCs sont capables d'affecter les fonctions thyroïdiennes durant la grossesse. (Jonathan et al., 2008). Tout de même, une faible exposition aux BPCs a aussi été corrélée à des changements, en particulier des altérations comportementales tel que l'apprentissage et la mémoire (Rossi et al., 1997) (Selvakumar et al., 2013)

Au niveau moléculaire, l'exposition aux BPC chez les nouveau-nés altère les niveaux de GFAP. (Morse et al., 1996). En effet, pour les cellules GFAP+ nous observons chez les nourrissons une augmentation au niveau du cervelet et une baisse au niveau du tronc cérébral à la suite d'une exposition maternelle chronique durant la gestation. (Morse et al., 1996). Ces astrocytes sont très importantes pour l'organisation du cerveau et joue un rôle important dans les moyens de communication avec les neurones ainsi que la régulation de la plasticité synaptique

(Nedergaard et al., 2003) (Seifert et al., 2006). Suite à l'exposition au BPC, les neurones de l'hippocampe surviennent à l'apoptose. (Roshan et al., 2010). Les BPC, parmi d'autres contaminants affectent aussi l'expression protéique de la synaptophysine dans certaines régions du cerveau en baissant sa disponibilité (Morse et al., 1996) (Goodwill et al., 2007). En effet, le vésicule synaptique est responsable du mécanisme de libération des neurotransmetteurs dans le corps alors que la synaptophysine est une des protéines les plus abondantes de cette membrane vésiculaire. La littérature indique que l'absence de la synaptophysine affecte l'efficacité de la neurotransmission. En effet, son absence cause un retard d'apprentissage surtout au niveau de la mémoire concernant la reconnaissance des objets. (Schmitt et al., 2009).

3.3 Exposition au Méthylmercure

Le MeHg est un type de mercure liquide à température de pièce, utilisé pour la préservation des graines servant de nourriture aux animaux (Long et al., 2004). Par contre, celui-ci peut être obtenu par la méthylation du mercure par des bactéries anaérobiques dans les eaux, les sédiments ainsi que les sols (Parks et al., 2013). Comme le mercure, la source primaire de MeHg chez les humains est la consommation de poissons d'eau douce et d'eau salée ainsi que des crustacés. Récemment de nombreuses recherches ont discuté des effets néfastes et de la toxicité du MeHg chez l'être humain (Hong et al., 2012)(Diez et al., 2009). Semblable aux autres contaminants environnementaux traditionnels, la mise en place d'une réglementation concernant la limitation de l'utilisation du méthylmercure est encouragée. Ceci explique donc l'existence des nombreuses agences régulatrices appartenant à différents partis politiques cherchant à combattre cette exposition. (Department of Environmental Protection et al., 2010) Malgré ces efforts, les problèmes environnementaux demeurent. En effet près de 300 000 nouveaux nés aux États-Unis ont été exposés in utéro à des niveaux dangereux de méthylmercure. (Mahaffey et al., 2003) Cette exposition souligne la capacité de différents moyens de transfert d'un tel contaminant. Effectivement, semblable au BPC, la littérature actuelle démontre que le MeHg est transféré par le lait maternel lors de l'allaitement. (Gartner et al., 2005) Ce lait maternel est contaminé dû aux globules de matière grasse provenant de la mère qui à leur tour transportent le MeHg des tissus jusqu'au lait. (Sundberg et al., 1999) De plus, les êtres humains sont exposés au MeHg bien avant leur naissance. Non seulement que ce contaminant traverse facilement du sang de la mère au sang de fœtus par la barrière placentale, mais il s'accumule chez le fœtus dans plusieurs tissus des

concentrations beaucoup plus élevés que celle de la mère sachant qu'elle est plus difficilement éliminée du corps (Suzuki et al., 1967) Une telle exposition prénatale à des niveaux élevés de MeHg a été corrélée à des effets neurologiques importants à long terme tels que des déficits affectant la mémoire verbale et l'accomplissement de la tâche du séquençage visuelle (Lam et al., 2013). Les effets toxiques de l'exposition au MeHg semblent toucher surtout le développement du cerveau juste avant la naissance. Tout de même, le montant minimal nécessaire pour l'observation de tels effets reste indéterminé (Myers et al., 2007). D'autres symptômes communs de cette exposition périnatale sont le déficit sensoriel, la déficience motrice, ainsi que le déclin cognitif général (Acton., 2012). Le développement du cervelet est lui aussi très affecté, et plus spécifiquement la couche granulaire. Le MeHg induit un stress oxydatif dans les cellules granulaires résultant en une apoptose de ces cellules (Patel et al., 2013). Encore, semblable au BPC, cette apoptose n'atteint pas uniquement les cellules granulaires, mais aussi les neurones plus matures du cervelet. (Fujimura et al., 2015).

Les niveaux de GFAP ont été démontrés comme étant de bons marqueurs de neurotoxicité dans le cortex, l'hippocampe et le cervelet suite à une exposition au MeHg (El-Fawal et al., 1996). D'après une étude française, près de 5% des femmes enceintes sont exposées à un niveau de MeHg supérieur au niveau toléré (Pouzaud et al., 2010). Tout de même, aucune étude ne traite des effets d'une telle exposition sur la mère enceinte sachant qu'à priori, la littérature s'intéresse aux effets sur les nouveau-nés.

3.4 Exposition aux composées organochlorées

Les composés organochlorés incluent une large variété de produits chimiques différents qui appartiennent aux polluants organiques persistants. Ceux-ci obtiennent leur nom grâce à leur capacité de persister et de s'accumuler dans l'environnement pour des années subséquentes à leur utilisation. Ces produits chimiques s'accumulent au niveau de la chaîne alimentaire des animaux. (Carpenter et al., 2005). De 1940 à 1970, les composées organochlorées ont largement été utilisées aux États-Unis comme pesticide. À la suite de la découverte de leurs effets nocifs chez les humains, leur usage a été limité sachant qu'ils sont très résistants dans l'environnement (Fenster et al., 2006). Tout de même, malgré les réglementations qui interdisent l'utilisation de

ces composés, on retrouve les composés organochlorés persistants produits jusqu'aujourd'hui de façon involontaire comme sous-produit industriel. (Grimalt et al., 1994) De façon similaire au MeHg et au PBC, l'exposition de l'être humain aux composés organochlorés persistants commence in utéro. (Rogan et al., 1986) Ces composés sont capables de traverser le placenta ce qui pose un danger à long terme pour le fœtus. (Vizcaino et al., 2011).

Cette exposition ne s'arrête pas à la période prénatale, sachant que même à la naissance, ces composés sont capables d'être transférés. Ce transfert est réalisé durant l'allaitement en utilisant les globules de la matière grasse du lait. (LaKind et al., 2004) Même durant l'enfance ou encore l'âge adulte, ces composés se transmettent à l'humain par l'alimentation sachant que cette dernière devient la source principale d'exposition. (Llop et al., 2010) Malgré la présence d'information et d'évidence sur la toxicité chez les animaux, l'information sur leurs effets néfastes sur la population humaine reste limitée. Quelques études démontrent la corrélation entre l'exposition des composés organochlorés et l'augmentation de la concentration du sérum total T3 chez les enfants (<15 ans) (Freire et al., 2012). Les implications d'une telle altération de la fonction thyroïdienne restent non explorées par la littérature. De même, il existe une incertitude en ce qui est des effets des composées organochlorées sur la santé des fœtus sachant qu'il existe de faibles corrélations avec des problèmes de santé telle que le cancer, le développement neurologique, l'altération du fonctionnement du système endocrinien, l'obésité et le diabète (Jayaraj et al., 2016). L'incertitude concernant les effets néfastes sur la santé par les composés

organochlorés dépend donc de l'exposition simple aux composés organochlorés ou en combinaison avec d'autres contaminants, soit un mélange de contaminants (Sexton et al., 2013). À notre connaissance, aucune recherche n'a exploré les effets d'une exposition aux composés organochlorés sur les femmes enceintes malgré l'abondance de recherche concernant les nourrissons. Tout de même, la littérature confirme que la concentration sanguine maternelle de composés organochlorés est corrélée avec les altérations touchant le développement neurologique des nourrissons. (Jayaraj et al., 2016)

3.5 Exposition à un mélange

La littérature démontre l'impact neurologique de l'exposition de façon indépendante des BPC, du MeHg ainsi que des composées organochlorées sur les nouveau-nés. Tout de même, malgré la vaste exposition à un mélange de ces trois contaminants, la littérature demeure très limitée concernant l'impact d'une telle exposition sur l'anatomie et la structure neurologique de l'être humain. En effet, avec la bioaccumulation et la stabilité environnementale de ces trois contaminants, nous observons une accumulation avec le temps au niveau marin de la région arctique. (Macdonal et al., 2000). Par conséquent, les populations habitants ces régions deviennent donc les victimes primaires à de telles expositions dues à leurs diètes qui se caractérisent par leur richesse en poisson et produits de la mer. (Makri et al., 2004). L'utilisation du NCM "Northern contaminant mixture" qui se base sur le profil sanguin de ces populations du Nord Canadien, nous offre une opportunité de reproduire la condition pour ces habitants. (Padhi et al., 2008) Le NCM est constitué de trois types de contaminants assez dangereux. Ce sont le MeHg, le BPC et finalement les composés organochlorés. (Muckle et al., 2001) Une évaluation in utéro des effets d'une telle exposition sur les nourrissons a déjà eu lieu. Ce mélange démontre des altérations au niveau de la croissance, ainsi qu'un changement du poids des organes tel que le foie (Pelletier et al., 2009). Aucune étude n'a abordé les effets d'un tel mélange sur la structure cérébrale des mères lors de la période gestationnelle.

Pour tous les mammifères, la grossesse est considérée comme étant une période lors de laquelle on observe une plasticité cérébrale accrue chez les femmes. Cette plasticité est présente au niveau physiologique, cellulaire et même moléculaire entraînant des changements physiologiques et comportementaux. Donc, il est important de pouvoir évaluer les effets d'un tel mélange de contaminants lors de cette période importante de la vie d'une femme. Plus spécifiquement, il est important d'évaluer les changements affectant le cerveau post-partum.

Objectifs

1. Évaluer les changements morphologiques associés à la grossesse, nombre de nourrissons et distribution des sexes, suite à l'exposition chronique à un mélange de contaminants et au méthylmercure à deux concentrations distinctes lors de la grossesse dans un modèle animal.
2. Explorer les changements à la plasticité du cerveau post-partum, en ce qui est du nombre de neurones et cellules gliales, suite à une exposition chronique à un mélange de contaminants et au méthylmercure à deux concentrations distinctes lors de la grossesse et l'allaitement.

Chapitre 4: Méthodes

4.1 Les animaux et les traitements

Les rats de souche Sprague–Dawley (250 – 275g) ont été achetés des laboratoires de Charles River (St-Constant, QC, Canada) et ont été gardés dans des cages de polycarbonate dans lesquelles se trouvaient des copeaux de bois. La chambre a été gardée à une température de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ avec $50 \pm 10\%$ humidité pour un cycle de lumière de 12 h (avec la lumière allumée à 7h). La nourriture (Purina Mills LabDiet 5001) et l'eau étaient disponibles ad libitum.

Une acclimatation de plus de 20 jours a permis aux rats femelles de s'habituer à leur environnement ainsi qu'aux manipulations par les techniciens de laboratoire. Les rats femelles ont été entraînés pour accepter un biscuit sucré. (Teddy Graham, Kraft Canada, Canada). Quinze femelles par groupe de traitement ont été accouplées avec un mâle, pour obtenir au moins 10 portées par traitement; deux femelles ont été introduites dans une cage d'un rat mâle et ont été contrôlées deux fois par jour pour la présence d'un bouchon vaginal. Dès la détection de la copulation/grossesse potentielle, les femelles ont été retirées des cages de rats mâles pour être hébergées seules et assignées aléatoirement à un groupe de traitement. Le dosage des femelles a eu lieu dès la première journée de gestation (GD0) jusqu'à la journée 21 postnatale (PND21). Le dosage s'est fait avec un biscuit dans lequel était imbibé un volume d'huile de maïs (1.0 ml/kg b.w.) avec la concentration désirée du contaminant. Tous les rats ont consommé leur biscuit en entier en moins de 5 minutes. Le mélange et le MeHg ont été administrés à deux niveaux ($1\times$ and $100\times$). Les femelles ont été surveillées d'une façon quotidienne et la date d'accouchement notée (PND 0). Les nouveau-nés ont été comptés et pesés à leur naissance et limités à 5 mâles et 5 femelles par litière au PND 2. La mortalité et morbidité ont été notées pour chaque portée.

Vingt et un jours post partum, au moment où l'on a sacrifié les nourrissons, on a aussi sacrifié les mères. Les rats ont été saignés avec une solution saline grâce à une ponction cardiaque sous l'anesthésie d'isoflurane continue et les tissus fixés par la perfusion d'une solution de 4% paraformaldéhyde. Les cerveaux ont été enlevés du crâne et ont été gardés dans une solution de

4% paraformaldéhyde toute la nuit par la suite ils ont été transférés à une solution de sucrose à 20% et gardé à 4°C jusqu'à l'étape du tranchage.

Toutes ces expériences ont adhéré aux directives du Conseil Canadien de Protection des Animaux et ont été acceptées par le comité de protection des animaux de Santé Canada (là où les traitements ont été faits).

4.2 Tranchage

Les cerveaux ont été placés sur un piédestal individuellement et tranchés à une température de -20 °C avec l'aide d'un cryostat (Leica CM1860). Les cerveaux ont été tranchés dans leur intégralité à une épaisseur de 30 µm la section. Les sections ont été placées dans une plaque à 12 puits remplis de tampon PBS et chaque 12^{ème} section a été montée sur une lame (6 sections par lame) pour ensuite en faire la coloration de Nissl. Les sections dans les puits ont ensuite été placées dans des tubes microcentrifuges dans une solution d'antigel et gardées au congélateur à -20 °C jusqu'au temps de l'immunohistochimie.

4.3 Coloration de NISSL

La coloration de NISSL s'est faite sur les sections déjà montées lors du tranchage des cerveaux. Cette coloration se base sur l'interaction du violet de Crésyl avec l'acide nucléique présent au niveau des cellules. (Figure 1) La procédure de coloration consiste à tremper les tranches de cerveau sur les lames dans une série de quatre solutions d'éthanol de concentrations décroissantes. Ceci a commencé avec une solution d'éthanol de 100% pour 2 minutes, suivis à une solution de 90 puis 70% puis 50% d'éthanol pour 2 minutes chacune. Ceci nous a permis d'hydrater nos tissus progressivement afin d'améliorer la coloration des tissus sachant que le NISSL nécessite la présence d'eau afin de pouvoir colorer les tissus. Par la suite, ils sont trempés dans l'eau afin d'assurer le lavage des tissus en question - l'eau MilliQ pour 1 minute. Ceci est suivi par 5 à 10mins dans le violet de Crésyl préparé dans de l'acide acétique glaciale. Le crésyl violet est capable de s'attacher à l'acide nucléique de l'ADN ainsi que l'ARN concentré au niveau du réticulum endoplasmique rugueux et des ribosomes. (Scott et al, 1966) Cette étape est suivie d'un lavage et ensuite une déshydratation progressive des tissus grâce à des concentrations croissantes d'éthanol. (Lapper et al, 1992) Ceci va commencer avec une solution d'éthanol de

50% suivis à une solution de 70%, puis 90% et finalement 100% pour 2 minutes chacune. Cette déshydratation progressive est non seulement nécessaire afin d'éliminer tout excès de NISSL mais elle permet surtout d'éliminer les traces d'eau. Il est important à noter que l'élimination de ces traces va permettre d'obtenir des lames très claires sachant que la présence de celles-ci crée un effet brumeux sur la lame. Finalement, une fois déshydrater les sections ont été placées dans deux contenants de xylène consécutifs afin d'améliorer la clarté des tissus. (Jones, 1996)

4.4 Immunohistochimie

L'immunohistochimie pour la protéine acide fibrillaire gliale (GFAP) a été performée sur près de 60 sections « flottantes » pour chacun des 60 animaux (Figure 2). Brièvement, les sections ont été rincées 3 fois pour 5 min dans une solution de tampon de phosphate 0.01M (phosphate buffered saline; PBS , pH :7.2 – 7.3). Par la suite, elles ont été incubées pour une période de 20 minutes dans du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à 0.06% afin de bloquer la majorité des activités de peroxidase endogènes. Un lavage au PBS a été nécessaire afin d'enlever le peroxyde restant.

Trois rinçages additionnels d'une durée de 5 min dans du PBS-T (phosphate-buffered saline + Triton 0.2%) a eu lieu avant de déposer les sections dans le sérum de chèvre (normal goat serum) à une concentration de 10% (Vector Labs S1000). L'ajout du triton au tampon permet la perméabilisation des membranes cellulaires dans le but de maximiser la pénétration des anticorps dans les étapes subséquentes. L'usage du sérum limite la coloration de l'arrière-plan et permet aussi de bloquer l'adhésion des anticorps de façon non spécifique. Par la suite, les tissus ont été incubés avec l'anticorps anti-GFAP (DAKO, DK-2600) préparé dans le lapin à une concentration de 1 :1000 pour une heure à température ambiante et à une température de 4°C pour une durée de 48h ; ces incubations ont eu lieu sur un agitateur orbital. Une fois les 48h terminées, les sections ont été rincées 3 fois pour une durée de 5 min dans du 0.01M PBS-T afin d'éliminer les excédents d'anticorps primaires (anti-GFAP).

À la suite du rinçage, un anticorps secondaire biotinylé a été ajouté pour une période d'incubation de 2 heures. Celui-ci en est un qui reconnaît l'anticorps primaire, donc un anti-lapin préparé dans

la chèvre (Vector Labs BA1000). Cette période est suivie par un lavage dans la solution tampon afin d'éliminer les excédents d'anticorps secondaire. Par la suite, le complexe ABC (Avidin-Biotin Complex, Vector Labs PK6100) a été ajouté à une concentration de 2% - celui-ci s'appose à l'anticorps secondaire biotinylé en formant un complexe; l'incubation s'est faite pour 1h30 min, ensuite les sections lavées afin d'éliminer l'excédent du réactif. Finalement, la réaction a été visualisée à l'aide du chromogène DAB (3,3'-diaminobenzidine - Vector Labs SK4100) à une concentration de 1.9%. Ce dernier est oxydé en présence du peroxyde d'hydrogène à une concentration de 1.5%. Cette réaction nous a démontré une coloration brune insoluble où se retrouvaient les cellules GFAP positives.

Suite à l'immunohistochimie, les sections ont été disposées sur des lames, en ordre rostro-caudal pour chaque animal. Une fois les sections sèches placées sur les lames, celles-ci ont subi une déshydratation dans une progression croissante de concentrations d'alcool; les sections ont ensuite été recouvertes avec une lamelle. Des exemples de l'immunohistochimie sont démontrés à la Figure 5.

4.5 Choix neuroanatomiques

4.5.1 Choix des régions et des tissus

L'atlas "The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates, Sixth Edition" de Paxinos et Watson (2007) fut utilisé afin d'identifier et de délimiter les régions d'intérêts pour la photographie. Ceci a permis d'assurer une consistance au niveau de la sélection des régions à étudier pour les 60 rats. Cet atlas utilise le Bregma comme étant le point de repère pour le reste des structures du cerveau. Le Bregma est déterminé grâce au point de rencontre de la suture coronale (la suture entre l'os pariétal et l'os frontal) et la suture sagittale (la suture entre les deux os pariétaux, sur la ligne médiane) sur le crâne. Toutes les régions d'intérêts sont localisées grâce à la distance entre le bregma et la région d'intérêt tel qu'indiqué dans le tableau 1. Pour le MPOA nous avons sélectionné deux sections qui se trouvent entre le Bregma 0.96mm à -1.44mm, pour le CA1 nous avons sélectionné 3 sections entre Bregma -2.28mm à -3.96 et une section entre Bregma -4.2mm

et -6.84mm et finalement pour le CA3 nous avons sélectionné 5 sections dont 3 entre Bregma -1.72mm à -5.76mm et 2 entre Bregma -6 mm à -6.12mm.

Région du cerveau	Bregma	Photos *
CA1	-2.28 mm à -3.96mm	52-66
	-4.2 mm à -6.84mm	68-90
CA3	-1.72 mm à -5.76 mm	47-81
	-6 mm à -6.12 mm	83-84
MPOA	0.96 mm à -1.44 mm	29-45

*Photos des sections dans le Rat Brain Atlas de Paxinos and Watson qui correspondent aux écarts de bregma d'intérêts indiqués ci-dessus.

Tableau 1 : Les valeurs Bregma du ‘‘The rat brain atlas de Paxinos and Watson’’ (2007) utilisées pour la délimitation des régions d'intérêt.

4.5.2 Délimitation des régions d'intérêt

Les régions d'intérêt MPOA (Figure 3A), CA1 (Figure 3B) et CA3 (Figure3C) ont été identifiés à l'aide de l'atlas Paxinos et Watson (2007). Les photos des différentes régions ont été prises exactement au même endroit pour chacun des cerveaux.

4.6 Comptage de cellules positives

Afin d'effectuer une analyse quantitative du nombre de cellules, l'utilisation d'un microscope (Zeiss Axio Imager) a été nécessaire. Les photos ont été prises à différents grossissements (10x, 20x et 40x) tout en gardant une qualité optimale pour chaque photo. Chacun de ces grossissements a permis d'amener le plus de clarté à notre région d'intérêt. Tout de même, le comptage a été réalisé sur les photos prises à un grossissement de 10x (donc 100X avec l'objectif oculaire compris).

Le comptage des cellules a été réalisé à l'aveuglette - les lames n'étaient identifiées que par un numéro et non par le traitement; par conséquent l'identité des groupes est révélée après les comptes. Ceci a permis d'éliminer les biais lors du comptage.

Grâce au logiciel Image-J, un carré de 3.5cm de côté soit disant 284 pixels a été délimité dans chacune des régions d'intérêts (voir Figure 3). Ce carré a été placé dans la région de cellules la plus dense au niveau de l'hypothalamus (MPOA) et l'hippocampe (CA1, CA3). Le corps cellulaire a dû être complètement visible dans le carré pour que la cellule fasse partie du compte. Il faut noter que pour l'ensemble des trois régions le comptage est réalisé d'une manière bilatérale. Le compte bilatéral pour chaque section a été noté dans un document Excel afin de faire les totaux et les moyennes.

4.7 Analyses Statistiques

La différence entre le nombre moyen de cellules des différents groupes de traitement a été analysée séparément par région du cerveau et pour chaque marqueur cellulaire. Une fois le code du traitement par animal révélé, le nombre moyen de cellules a été calculé. Un test Levene d'homogénéité de la variance a premièrement été effectué. Ce test a démontré une absence d'hétérogénéité des variances. Par la suite, les données ont été analysées en effectuant une Anova double afin de comparer le nombre moyen de cellules entre les traitements. Dans le cas d'une différence significative, un test Dunnett de comparaison multiple a été effectué pour comparer tous les groupes au groupe contrôle ; ce test permet de contrôler le taux d'erreur de type I du côté familial (family-wise error rate) associé avec de multiples comparaisons.

Chapitre 5: Résultats

5.1 Implantations utérines et nourrissons vivants

Les différences dans le nombre d'implantations utérines et le nombre de nourrissons nés vivants à la suite d'une exposition aux contaminants sont démontrées dans la Figure 1. Aucune différence n'a été observée entre les différents traitements, que ce soit pour le nombre d'implantations utérines ou le nombre de nourrissons qui sont nés ($p > 0.05$).

5.2 Survie jusqu'à la 5^{ème} journée postnatale

L'effet du traitement sur le nombre moyen de nourrissons qui survivent à la 5^{ème} journée postnatale selon le sexe est noté (Figure 2). Nous n'observons pas de différence significative au niveau de la survie des nourrissons ($p > 0.05$) ainsi que la distribution selon leur sexe avec les différents traitements ($p > 0.05$).

5.3 Immunohistochimie

Le nombre de cellules gliales mesuré grâce au comptage des cellules GFAP+ de la région du CA1 de l'hippocampe (A), du CA3 de l'hippocampe (B) et finalement du MPOA (C) est présenté dans la Figure 3. Nous n'observons aucune différence due au traitement au niveau du CA1 (A) ($P > 0.05$). En ce qui a trait à la région CA3 de l'hippocampe, uniquement les traitements du MeHg 1.0, Mélange 0.04 et Mélange 4.0 ($P < 0.05$) ont augmenté significativement le nombre de cellules GFAP+ comparativement au groupe témoin ($P < 0.05$); résultat du test de Dunnett's suite à l'ANOVA. (Voir tableau 4 dans l'annexe pour les valeurs exactes de p). Finalement pour le MPOA, uniquement le Mélange 4.0 ($P < 0.05$) a démontré un effet sur le nombre moyen de cellules GFAP+, celui-ci étant associé avec un nombre plus élevé de cellules GFAP+ que le groupe témoin. Une représentation des photos apparaît à la Figure 5 A, B, et C. (Voir tableau 4 dans l'annexe pour les valeurs exactes de p)

5.4 Coloration Nissl

Le nombre de neurones (Figure 4) au niveau de l'hippocampe a été évalué grâce au comptage des neurones identifiés par le NISSL+ de la région du CA1 de l'hippocampe (A), du CA3 de l'hippocampe (B) et finalement du MPOA (C); une représentation des photos apparaît dans la Figure 5 D, E, et F. Il n'y a pas de différence due au traitement au niveau du CA1 et le MPOA. Cependant, dans la région CA3 de l'hippocampe, les traitements du MeHg1.0, Mélange0.04 et Mélange 4.0 ont augmenté significativement le nombre moyen de cellules NISSL+ comparativement au groupe témoin sans traitement ($P < 0.05$). De plus, nous notons que les doses élevées de MeHg (1.0) et du Mélange (4.0) ont augmenté de façon significative le nombre moyen de cellules NISSL+ comparativement à la dose plus basse correspondante (MeHg 0.01 et Mélange 0.04; $P < 0.05$). (Voir tableau 5 dans l'annexe pour les valeurs exactes de p)

Région	Résultats
CA1	Les traitements du MeHg 1.0, Mélange 0.04 et Mélange 4.0 ont démontré une augmentation significative du nombre d'astrocyte versus le groupe témoin.
CA3	Les traitements du MeHg 1.0, Mélange 0.04 et Mélange 4.0 ont démontré une augmentation significative du nombre de neurone versus le groupe témoin ($p < 0.05$); les doses élevées de MeHg (1.0) et du Mélange (4.0) ont démontré une augmentation significative du nombre de neurone versus MeHg 0.01 et Mélange 0.04
MPOA	Le Mélange 4.0 a démontré une augmentation significative du nombre moyen d'astrocyte versus le groupe témoin

Tableau 2 : Sommaire des résultats de la thèse

Chapitre 6: Discussion

6.1 Survie à la naissance et distribution des sexes

L'exposition à un mélange de contaminants et au méthylmercure chez la ratte enceinte n'a pas affecté le taux de survie à la naissance. De plus le nombre de nourrissons vivants au PN5 était semblable parmi les groupes étudiés sans différence significative entre les mâles et femelles. Ceci suggère que les facteurs de sexe et nombre de nourrissons ne seront pas confondants à l'étude des changements potentiels dans les cerveaux reliés à l'exposition aux contaminants. En effet, une étude a démontré que l'exposition au MeHg affecte de manière similaire les deux sexes par contre le taux d'élimination du MeHg était dépendant du sexe et de la dose. (Nielsen et al., 1992). Par contre, la littérature démontre une différence dans les niveaux sanguins du MeHg à une concentration de 8mg/kg selon le sexe pour des rats à 7.5 semaines. Les rats femelles ont une concentration beaucoup plus élevée dans le sang, le cerveau et le foie que leur contrepartie mâle. (Magos et al., 1982) Similairement au MeHg, aucune différence significative n'a été observée à la suite de l'exposition du mélange à l'égard du taux de survie des nourrissons ainsi que du ratio de mâles: femelles. (Pelletier et al., 2005)

6.2 L'effet de l'exposition périnatale au mélange de contaminants et au MeHg sur le nombre de neurones au niveau de l'hippocampe et de l'aire préoptique

Les mesures quantitatives à l'égard de l'effet du mélange de contaminants sur le nombre de neurones diffèrent dépendamment de l'emplacement au niveau de l'hippocampe ou du MPOA. En effet, une absence d'effet significatif du mélange de contaminants sur le nombre de neurones a été observé au niveau du CA1 de l'hippocampe ainsi que pour le MPOA, et cela pour tous les traitements. Quant aux neurones au niveau de la région du CA3 de l'hippocampe, nous observons une différence significative avec l'exposition des deux mélanges de substances toxiques; il y a plus de neurones avec l'exposition des deux mélanges de substances toxiques, comparativement au groupe témoin. De plus, l'exposition au mélange contenant une concentration élevée de substances toxiques résulte en un nombre plus élevé de neurones comparativement au mélange contenant la plus faible concentration.

A la suite d'une exposition au MeHg, on n'observe aucune différence significative au niveau du MPOA et du CA1 de l'hippocampe, peu importe la concentration du mélange. Quant au CA3 de l'hippocampe, nous avons retrouvé une différence significative comparativement au groupe témoin mais seulement suite à une exposition avec une concentration élevée de MeHg. En effet, le nombre de neurones est plus élevé non seulement en les comparant avec le groupe contrôle, mais aussi avec le MeHg à faible concentration. Le MeHg à faible concentration n'affecte pas le nombre de neurone ni au niveau de l'hippocampe (CA1 et CA3) et ni au niveau du MPOA. Seule la concentration élevée du MeHg a eu un impact localisé dans région CA3 de l'hippocampe. Ceci démontre que l'effet négatif de l'exposition du MeHg est localisé dans une région spécifique du cerveau dépendamment de sa concentration.

Puisque les changements significatifs sont localisés au niveau de la sous-région "CA3" de l'hippocampe, il faut donc explorer l'importance de cette région et ses rôles au niveau comportemental. Le CA3 participe à acquérir et enregistrer l'information spatiale, la capacité extrêmement rapide des propriétés de codage spatial et temporel, ainsi que la capacité de récupération de leur fonction. (Kesner et al., 2013) Par conséquent, la présence de différence significative pour le nombre de neurones au niveau du CA3 peut potentiellement affecter ces attributs comportementaux. En effet, la région CA3 joue un rôle important dans le codage de la nouvelle information à court terme. (Raymond et al., 2007) Par conséquent, avec les changements affectant le nombre de neurones au niveau du CA3, nous suggérons une altération potentielle au niveau de la circulation de l'information au niveau du circuit trisynaptique suite à l'exposition du mélange de contaminants et le MeHg à haute dose lors de la période post-partum. Le circuit trisynaptique au niveau duquel l'information primaire se déplace de la deuxième couche du cortex entorhinal (CE) pour se projeter au niveau du dentate gyrus (DG), du CA3 et du CA2. (Teyler et al., 2007) Les axones fournissent un apport synaptique au niveau des cellules granulaires du DG, qui à leur tour excite les fibres mossy et les cellules pyramidales de la région du CA3. (Lorente et al., 1934) Le Schaffer collatérale va transmettre le signal aux cellules pyramidales de l'hippocampe qui vont par la suite projeter au subiculum et ensuite aux couches profondes du CE. (Ramon et al., 1911) (Andersen et al., 1971) Toutes les projections sont glutaminergiques et excitatrices; les réponses trisynaptiques sont enregistrées au niveau du CA1 à

la suite de la stimulation de la voie perforante. (Andersen et al., 1966) (Herreras et al., 1987) Ceci dit, l'information une fois sortie du CE va se projeter au niveau du DG qui par la suite sera affecté due aux changements au niveau du CA3. Ceci aura donc le potentiel d'affecter le processus de mémoire et d'apprentissage.

Le circuit trisynaptique n'est pas la seule voie pour la circulation de l'information vers l'hippocampe. (Brown et al., 1990) La deuxième, appelé la projection temporo-ammonique, commence au niveau du lobe temporal et termine au niveau du CA1 de l'hippocampe. (Andersen et al., 1966) et émerge de la troisième couche de neurone. C'est une circulation directe grâce à la connexion monosynaptique entre la troisième couche entorhinal et la région dendritique distale du CA1 de l'hippocampe. En effet, ce circuit va éviter les deux premières étapes du circuit Trisynaptique. Due à des connexions organisées et réciproques entre l'hippocampe et les régions adjacentes associées, l'information qui est initialement tamponnée au niveau de l'hippocampe (DG, CA1 et CA3) peut être transférée au néocortex pour l'entrepôt à long terme. (Teyler et al., 2007) (Nakashiba et al., 2008)

Quant à l'absence de changement concernant le nombre total de neurones au niveau du CA1 et du MPOA, ceci n'indique pas pour autant qu'il n'y ait pas de changements morphologiques. En effet, la proportion des neurones pyramidaux au non pyramidaux pourrait être altérée. Il est important de préciser que les neurones pyramidaux ont tous des rôles importants dans les actions comportementales complexes. En effet, ils ont tous des rôles différents dans le traitement de l'information, l'apprentissage et la mémoire. (Graves et al., 2012)

6.3 L'effet de l'exposition périnatale au mélanges de substances toxiques et au MeHg sur le nombre de cellules gliales au niveau de l'hippocampe et de l'aire préoptique

Antérieurement, les études s'intéressaient plutôt aux changements produits par des contaminants environnementaux sur les neurones à cause de leur rôle mieux connu en ce qui est de la cognition et du comportement. Récemment la littérature démontre un intérêt à la contribution d'une telle exposition sur les cellules gliales et plus spécifiquement les astrocytes.

L'effet des substances toxiques sur le nombre de cellules gliales dépend de la région cérébrale étudiée durant la période post-partum. Les deux concentrations du mélange de contaminants n'ont eu aucun effet sur le nombre de cellules gliales au niveau du CA1. Par contre, nous avons observé un nombre de cellules gliales significativement plus élevé pour les deux concentrations du mélange de contaminants par rapport au groupe contrôle dans la région du CA3. Finalement, pour la région du MPOA, le mélange de contaminants à concentration élevée est le seul qui démontre un nombre de cellules gliales plus élevé par rapport au groupe contrôle.

Similairement au nombre total de neurones, nous n'observons aucune différence significative au niveau du CA1 et du MPOA pour les deux concentrations de MeHg. Au niveau du CA3, nous notons une augmentation significative dans le nombre de cellules gliales à la suite de l'exposition à la haute concentration de MeHg. Contrairement au nombre total de neurones, il n'y a pas de différence dans le nombre d'astrocytes entre les deux concentrations du MeHg.

D'autres études démontrent des altérations majeures concernant le nombre de cellules gliales, exprimées par les niveaux du GFAP, suite à une exposition maternelle au BPC, contaminant qui fait partie du mélange que nous avons utilisé. Parmi ces changements, il y a une augmentation significative du nombre d'astrocytes au niveau du pédoncule olfactif latéral et du cervelet, des régions jouant un rôle dans l'olfaction et le mouvement, alors qu'il y a une diminution significative au niveau du tronc cérébrale. (Morse et al., 1996) Ceci dit, il semble n'y avoir aucune étude qui a investigué les effets du BPC sur le MPOA ou le CA1 et CA3 de l'hippocampe.

Une étude démontre une augmentation du nombre de cellules gliales à la suite d'une exposition au MeHg lors de la période périnatale. (Charleston et al., 1994) En effet, l'augmentation du nombre de cellules gliales s'explique potentiellement par l'astrogliaose réactive qui permet d'épargner les neurones des endommagements directs de stimuli environnementaux. (Atchison et al., 1996). Cette dernière est la forme de gliaose la plus commune qui induit une prolifération des astrocytes ainsi qu'une augmentation du filament intermédiaire à la suite d'une neurotoxicité. (Volterra et al., 2005) (Hamby et al., 2010) Sous des conditions pathologiques, une réponse

inflammatoire a lieu au niveau du système nerveux central. Que ce soit au niveau des cerveaux adultes ou encore des cerveaux immatures, l'astrogliose réactive est déclenchée afin de répondre à l'exposition aux neurocontaminants et est caractérisée par l'accumulation du GFAP. Cette accumulation permet de supporter les neurones, de réguler la barrière hématoencéphalique, la modélisation de l'espace extracellulaire, le contrôle des cellules immunitaire, et le contrôle de la formation de synapses. (Minagar et al., 2002) (Popescu et al., 2009) Tous ces changements permettent d'influencer la manière dont le cerveau réagit face à l'endommagement au cerveau. (Liedtke et al. , 1996) L'astrogliose réactive potentiellement causée par l'exposition au MeHg est consistante avec les réponses observées chez les humains et les animaux à des concentrations de MeHg assez variées. (Nabi et al., 2016)

Chez les adultes, la région du CA3 de l'hippocampe est considérée comme étant la sous-région la plus vulnérable à la suite d'une présence d'un stress chronique. Ceci se révèle par les changements neuronaux les plus sévères lorsqu'on la compare avec le CA1. (Greene et al., 2009; Christian et al., 2011) Par conséquent, ceci peut expliquer les changements au niveau des neurones et des cellules gliales à la suite de l'exposition aux contaminants qui sont visibles uniquement au niveau du CA3; il y a absence de changement au niveau du CA1 de l'hippocampe.

6.4 Interaction entre les neurones et les astrocytes

Le mélange de contaminants ainsi que le MeHg seul, qui est une composante de ce mélange, causent des réponses diverses à l'égard des cellules gliales et des neurones. D'un côté, le MeHg est capable de réduire les effets d'oxydation. (Allen et al., 2002) Ceci explique donc le mécanisme de neuro-dégénération qui se base sur le stress oxydatif à la suite d'une exposition au MeHg. (Ali et al., 1992) Les astrocytes sont requis pour la survie neuronale (Wagner et al., 2006) et par conséquent une perte normale des fonctions d'astrocytes sont un contributeur primaire de neurodégénération. (Brenner et al., 2001 ; Li et al., 2005 ; Quinlan et al., 2007) En effet, à la suite d'une exposition de mercure, il y a production de la cytokine proinflammatoire, interleukin-6, au niveau des cellules gliales. (Basset et al., 2012) Cette cytokine, produite par les astrocytes en réponse à de différents contaminants et suite à une lésion, protège les neurones contre le stress oxydatif qui cause la neurodégénération. Tout de même, l'importance physiologique ou

pathologique d'une hausse dans les niveaux d'interleukin-6 suite à l'exposition au MeHg ou autres contaminants, demeure inconnue. (Yusuke et al., 2016)

En se basant sur nos observations à l'égard de la vulnérabilité du CA3, ainsi que la capacité des astrocytes proliférés à protéger les neurones contre une neuro-dégénération, on peut soupçonner que l'augmentation en nombre de cellules gliales au niveau du CA3 peut être un mécanisme de protection pour le cerveau.

6.5 Mécanisme expliquant le rôle des cellules gliales et l'effet des hormones sur ces cellules gliales

Les changements au niveau des cellules gliales de l'hippocampe et de la région du MPOA affectent le comportement maternel est celle qui démontre que ces deux régions sont sensibles aux fluctuations hormonales lors des différents stages de reproduction. (Keyser et al., 1995)(Trainer et al., 1997) Ces régions sont critiques pour la correction de l'exécution du comportement maternelle. (Numan et al., 1994) (Bridges et al., 1995)

La littérature souligne aussi qu'une exposition à des contaminants modifie les niveaux d'hormones féminines ainsi que leurs fonctions sachant que ces contaminants peuvent causer une perturbation de l'équilibre hormonal. (Bretveld et al., 2006). Parmi ces perturbations hormonales, nous observons une perturbation des niveaux d'estrogène, de progestérone (Jayasena et al., 2011) et des récepteurs d'androgène.

Le MPOA est plus spécifiquement le centre d'intérêt de notre deuxième théorie sachant que cette région est sensible à l'activité hormonale. (Gorski et al., 1978) De plus, des lésions affectant le MPOA chez les rats femelles peuvent causer des perturbations au niveau du comportement maternel tel que la récupération des petits et la construction du nid. (Numan et al., 2003) L'importance de cette région pour le comportement maternel ne peut être nié et donc toute perturbation peut avoir des conséquences importantes sur ce comportement et donc pour le neurodéveloppement des jeunes. L'initiation du comportement maternel est influencée par des changements au niveau de prolactine dans le MPOA. De façon reliée, la modification des

comportements maternels a été observée avec des variations dans les niveaux d'œstrogène (Numan et al., 1977) et de progestérone. (Bridges et al., 1990). De plus, Bridges (1984) a noté que l'estradiol et la progestérone jouent un rôle important dans la maintenance de la grossesse ainsi que le comportement maternel. En effet, ces changements hormonaux sont capables d'affecter le comportement d'élever les nourrissons ainsi que d'attirer les nouvelles mères à leurs petits (Fleming et al., 1997)

Le comportement maternel est dépendant en partie sur le système endocrinien d'où l'exposition à ces hormones a des conséquences sur l'activité de ces régions spécifiques du cerveau. Par exemple, la sécrétion de la prolactine et son effet stimulateur sur l'activité neuronale au sein du MPOA de l'hypothalamus, démontré chez le rat, joue un rôle crucial à amorcer le cerveau pour le comportement maternel. L'effet stimulateur de l'estrogène au niveau de l'hippocampe a participé au niveau de l'exécution des fonctions spatiales et des expériences reproductives. (Madonia et al., 1998)

L'effet des hormones tel que l'œstrogène, progestérone et la prolactine n'est pas uniquement limité à des élévations d'activité au niveau du cerveau. Ces hormones reproductives altèrent aussi la morphologie et la physiologie des neurones ainsi que des cellules gliales. Les astrocytes sont un type de cellules gliales dont on retrouve dans le cerveau; celles-ci ont démontré la capacité de maintenir les concentrations d'hormones tel que la progestérone (Jung-Testas et al., 1989), et l'augmentation des niveaux des facteurs de croissance variés. Elles participent aussi au contrôle du nombre de connexions synaptiques entre neurones (Kohama et al., 1995) et participe aussi à d'autres fonctions homéostatiques incluant l'aide et la maintenance de la température cérébrale et allocation de nutrition aux neurones. (Kandel et al., 1985)

Les cellules gliales sont aussi sensibles aux hormones reproductives. En effet, Jung-Testas et Baulieu (1989) indiquent que les cellules gliales chez les rats contiennent des récepteurs pour la progestérone et l'œstrogène. Ces hormones affectent la prolifération des cellules gliales différemment; la progestérone a un effet inhibiteur sur cette prolifération alors que l'œstrogène a l'effet opposé. (Galea et al., 2006) Ceci explique donc peut-être l'altération que nous avons

observée dans le nombre de cellules gliales. En effet, l'exposition aux contaminants peut potentiellement induire une altération de l'équilibre hormonal qui à la suite affecte le nombre de cellules gliales. (Gifford et al., 1998) Plus précisément, nous avons utilisé le marqueur GFAP qui est capable de localiser les astrocytes types 1 et 2. (Garcia-Segura et al., 1996) Les niveaux élevés du GFAP nous indiquent une augmentation des astrocytes en général à la suite d'une l'exposition aux contaminants au niveau du MPOA et du CA3. Ceci suggère donc qu'il existe une augmentation potentielle des niveaux œstrogène à la suite d'une exposition aux contaminants qui encourage la prolifération des cellules GFAP.

Pour conclure, les contaminants sont capables de perturber les niveaux d'hormones reproductives féminines. Due à leur rôle de prolifération et d'inhibition, ces perturbations affectent à leur tour le nombre de cellules gliales au niveau du MPOA et de l'hippocampe

6.6 Les limites

L'utilisation du rat comme modèle animal pour cette étude est considérée comme étant la première limite de cette étude si nous désirons extrapoler ces résultats aux humains. Malgré le fait que les organes du rat sont proportionnels à celui de l'être humain et qu'il existe une similarité entre les réponses des êtres humains et des rats face aux contaminants et aux agents environnementaux, la neurobiologie sous-jacente au comportement maternel chez l'humain est moins bien connue. Par contre, la concentration des contaminants utilisés est basée sur le profil sanguin des populations du Nord. Donc l'intérêt à l'inférence existe.

Par la suite, le fait d'englober tous les neurones ensemble - c'est-à-dire l'omission d'étudier l'effet des contaminants sur la proportion des différents types de neurones - souligne un manque de détail assez important. En effet, la proportion entre les neurones pyramidaux au non pyramidaux est peut-être altérée avec ces expositions. De plus, parmi ces deux types de neurones, nous avons de nombreux sous types, catégorisés par les neurotransmetteurs et les neuropeptides qu'ils synthétisent. Ceci dit, le fait qu'on n'évalue pas les changements quantitatifs de ces sous types, nous ne permettra pas de déterminer la raison et le mécanisme sous-jacent pour les changements observés dans notre étude. Il est donc encouragé de poursuivre ceci dans une étude ultérieure.

Similairement, le manque d'analyse de la proportion des différents types d'astrocytes et d'oligodendrocytes qui peuvent tous être localisés grâce aux anticorps pour le GFAP, ne nous permettra pas d'observer les changements à un type spécifique.

Finalement, l'étude des récepteurs d'œstrogène et de progestérones nous aurait permis de déterminer une partie du mécanisme qui cause les changements quantitatifs au niveau des neurones et des astrocytes. Quant aux changements morphologiques, ceci pourra être le sujet d'études futures sachant que ceci pourra amener plus de précision à l'égard de l'influence de ces contaminants chez la mère post-partum.

Chapitre 7: Une approche interdisciplinaire

Le projet démontre beaucoup d'interdisciplinarité. En effet, le mélange de contaminants étudié a été obtenu grâce aux résultats d'études épidémiologiques existants. En effet, ce mélange se base sur le profil sanguin des populations nordiques. Le côté nutrition est particulièrement important étant donné la source primaire d'exposition à ces toxicants par ces populations nordiques. Cette étude se base aussi grandement sur la neuroscience, et ce, en ce qui est de la structure et le fonctionnement des différentes cellules d'intérêts - les neurones et les astrocytes. Ci-inclue, l'étude des différentes manières de transmission d'information, telle que le circuit trisynaptique. En effet, notre étude se base sur le fonctionnement du système nerveux ainsi que sur le rôle des astrocytes et des neurones. Finalement, notre étude fait partie du domaine de la toxicologie grâce à l'étude des effets de l'exposition au méthylmercure et au mélange de contaminants.

Malgré cette interdisciplinarité inhérente, la présentation suivante portera sur différents volets interdisciplinaires reliés au MeHg uniquement, une composante du mélange discuté dans les chapitres précédents. Suite à plusieurs recherches qui ont étudié les effets néfastes de l'exposition au MeHg, les nombreux incidents d'empoisonnements à grandes échelles qui ont été rapportés, ainsi que la mise en place de nombreuses directives et politiques formulées pour la protection du public, nous en sommes convenus que le MeHg est un excellent contaminant à explorer d'une manière interdisciplinaire.

Des études épidémiologiques ont démontré qu'il existe une inconsistance en ce qui est de la dose toxique de MeHg pour différentes populations (Young-Seoub Hong et al., 2012). Il a été suggéré que les pratiques alimentaires seraient possiblement un, parmi plusieurs facteurs significatifs, qui peuvent affecter la susceptibilité des gens au MeHg. Parmi ces facteurs, nous retrouvons l'emplacement géographique et la présence d'autres contaminants comme étant des facteurs importants. En effet, dépendamment de l'emplacement géographique, la concentration des contaminants, y inclut le MeHg, changera au niveau des eaux et par conséquent dans les espèces sous-marines qui y vivent. La durée, ainsi que le moment de l'exposition, va à leurs tours affecter la détermination de la dose toxique de référence. En effet, certaines périodes de croissance sont

plus sensibles au MeHg que d'autres. Finalement, les pratiques nutritionnelles sont capables de changer les niveaux d'absorption du MeHg, ce qui aura comme conséquence de changer les niveaux toxiques de référence. (US National Library of Medicine., 2016)

Les fœtus sont particulièrement sensibles au MeHg, même à des niveaux auxquels les symptômes maternels de toxicités ou de maladie sont presque absents. Les niveaux élevés d'exposition au MeHg périnatale peuvent donner lieu à des conditions telles que la paralysie, retard de développement mental, poids faible à la naissance et finalement un dysfonctionnement sensorimoteur durant la période fœtale. (Gilbert et al., 1995)

Par conséquent, les scientifiques se sont concentrés sur la réévaluation des doses de référence pour le MeHg en tenant compte des effets de développement prénataux ainsi que l'exposition des nourrissons et finalement en établissant le niveau le plus faible ayant des effets sur l'exposition humaine. (Clarkson et al., 1991)(Foldspang et al., 1990) (Marsh et al., 1995) (Ratcliffe et al., 1996) (Stern et al., 1993)

Cette réévaluation des doses de référence pour le MeHg a été possible principalement grâce à une analyse des épidémies de toxicité de mercure.

7.1 Une vision épidémiologique

Dans le but de présenter un aperçu épidémiologique de la toxicité du mercure sur les différentes populations, une étude des différentes épidémies d'empoisonnement sur une échelle mondiale est nécessaire. Ceci offrira une meilleure compréhension des facteurs influant une telle toxicité.

Les épidémies d'empoisonnement au MeHg dans la région autour de Minamata Bay et Niigata au Japon durant les années 1950 et 1960 ont été causées par la consommation élevée des fruits de mer contaminés. La contamination s'est faite due à la proximité de ces fruits de mer avec les usines de plastique. (Tsubaki et al., 1977). Les résultats d'études pathologiques ont démontré, une destruction et démyélinisation des neurones ainsi que des dommages importants au système

nerveux suite à une exposition au MeHg. (McKeown-Eyssen et al., 1983) Chez les nouveaux nés de la région de Minamata on a démontré des déficits neurologiques et plus spécifiquement des retards sévères de la psychomotricité qui ont souligné la vulnérabilité du système nerveux fœtal face au MeHg. (Lebel et al., 1998)

L'épidémie du MeHg d'Iraq en 1971 – 1972 est considérée comme étant l'épidémie la plus catastrophique causée par cet agent. Cette épidémie est due à la consommation de graines traitées avec un anti-fongique ayant une composante de mercure. Ceci a créé un taux d'empoisonnement de 28% dont près de 21% sont mort. Le nombre de décès durant les deux années qui suivirent l'épidémie a été 4 fois plus élevé que la moyenne des deux années qui l'ont précédé. (Amin-Zaki et al., 1981) (Greenzood et al., 1985). Donc on voit des différences en ce qui est de doses toxiques et leurs effets variés sur les populations.

En République des Seychelles, dans l'océan indien, 85% de la population consomme de façon quotidienne des poissons provenant de l'océan. Une étude qui évaluait les effets du MeHg y a pris place. Avec 711 dyades de mère et enfant étudiées, on a démontré une moyenne maternelle élevée de MeHg mesuré au niveau des cheveux de 6.8 ppm soit 6.5mg/L alors que la moyenne pour les enfants à l'âge de 66 mois était de 6.5mg/L. (Myers et al., 1997)

Une deuxième étude a eu lieu aux Iles Féroé, où similairement à la population de la République des Seychelles les gens sont exposés au MeHg dues à une consommation élevée de vie marine. Près de 917 enfants ont été étudiés à cet endroit; aucune anormalité n'a été notée à l'égard de l'examen clinique et neurophysiologique. Tout de même l'étude démontre que 112 enfants ont une concentration de mercure dans leurs cheveux de 10 à 20ppm. Les chercheurs ont aussi noté une réduction dans leurs habilités dans les domaines des fonctions motrices et cognitives, en particulier le langage et la mémoire. (Grandjean et al., 1998)

Ces deux études longitudinales permettent de déterminer plus spécifiquement les doses toxiques en utilisant comme base de données les doses mesurées. Ceci cherche à étudier les effets

prénataux de l'exposition du mercure à travers la consommation des fruits de mer sur le neurodéveloppement des petits. Ces études sont considérées comme étant des références par de multiples agences régulatrices à cause de l'usage d'une exposition chronique de MeHg d'une dose très faible. (Davidson et al., 1998) (Grandjean et al., 1998)

7.2 Politiques et régulations environnementales

Il est important de noter que les politiques et régulations environnementales ne sont pas les mêmes partout. En effet, il existe des différences observables entre les directives mondiales, Canadiennes et même Américaines.

Au niveau mondial, d'après l'Organisation mondiale de la santé, l'apport tolérable de MeHg est défini à 3.3µg/kg/semaine ou 200µg/semaine pour les adultes et les nourrissons. (World Health

Organization., 1990). Quant à Santé Canada, grâce aux études épidémiologiques décrites ci-haut, cet organisme propose qu'un niveau de 10 ppm MeHg au niveau des cheveux maternels soit sans danger sur la santé maternelle. Tout de même, une concentration supérieure à 10ppm a été reliée à un retard de développement ainsi que des anomalies neurologiques. En effet, il existe une absence d'effet observable à ce niveau. Ceci se convertit à un équivalent quotidien de 0.2µg/kg de poids /jour soit 1.4µg/kg/semaine. (Feeley et al., 1999) Quant aux États-Unis et leur agence régulatrice, the Environmental Protection Agency, ils ont décidé que la dose de référence pour le MeHg est 0.1µg/kg de poids/jour soit 0.7µg/kg/semaine. (Rice et al., 1999).

Par contre, pour un poids moyen d'une femme de 65kg, il est recommandé de consommer moins de 13µg par jour soit 91 µg de mercure par semaine d'après Santé Canada. D'après, l'agence régulatrice des États-Unis, il est recommandé de consommer au plus 45.5 µg par semaine et finalement d'après l'OMS, on cherche à limiter la consommation à 200 µg par semaine.

Selon les directives canadiennes, 250g de thon frais par semaine est le maximum montant à consommer avec l'absence d'effet observable. Ce montant est calculé sachant que la concentration moyenne du MeHg dans le thon frais est de 0.36 mg/L.

Ces quantités paraissent non réalistes pour une grande proportion de la population canadienne et plus spécifiquement les populations dans le Nord canadien. Par conséquent, une meilleure compréhension des effets d'une exposition au MeHg à des doses semblables aux populations à risque élevé s'avère donc nécessaire.(Chapman et al., 2000)

En plus de ces recommandations, il existe des directives mondiales en ce qui devrait être les niveaux de mercure inorganique et de MeHg acceptables afin de protéger la vie aquatique. Celles-ci ont été développées à la base du protocole du conseil canadien des ministres de l'Environnement (CCME). Malgré la mise en place de ces directives, une insuffisance de données existantes est flagrante sur les niveaux de mercure acceptable pour protéger la vie aquatique. En effet, les directives pour le MeHg n'adressent pas l'exposition du MeHg à travers la nourriture et la bioaccumulation des niveaux trophiques supérieurs. Par conséquent, les vies aquatiques ne sont pas protégées d'une manière adéquate, plus spécifiquement, ces directives n'affectent pas l'accumulation du MeHg au niveau des vies aquatiques. Ceci se traduit aussi en manque de protection pour les populations qui consomment ces vies aquatiques. Ceci signifie donc qu'on est incapable de respecter les directives concernant la limitation des résidus au niveau de la flore des océans et par conséquent de protéger toute espèce qui consomme cette flore de l'océan. (Environnement Canada., 2002). Donc, si notre objectif en ce qui concerne le mercure est de protéger la flore des océans ou encore les espèces consommant cette flore, il est nécessaire d'assurer une amélioration de la qualité des eaux.

De plus, afin d'assurer la protection environnementale, tous les protocoles environnementaux canadiens concernant le mercure doivent être appliqués. Ceci inclut donc tous les protocoles environnementaux concernant l'eau, les sédiments les tissus et le sol. (Cuvin-Aralar et al., 1991) (Heit et al., 1977) (Macleod et al., 1973) (McKenney et al., 1981) (Slooff et al., 1991) (Snell et al., 199)

7.3 Une vision nutritionnelle

La vision nutritionnelle de la toxicité du mercure sur les différentes populations indique que les diètes demeurent un facteur de variation important. Il est donc nécessaire dans un premier plan de

déterminer les sources de mercure dans l'alimentation et dans un deuxième plan d'évaluer et d'étudier les interactions entre les nutriments et les contaminants.

Avec les directives de Santé Canada qui indiquent les limites maximales de mercure sans danger dans les poissons sont 0.05ppm, une revue extensive des données à l'égard des effets de l'exposition actuelle du MeHg à travers les diètes des différentes populations est nécessaire. En effet, la contribution des poissons et produits maritimes contribue à 20 à 85% des sources du MeHg chez les populations. (Galal-Gorchev et al., 1993) (Aronsson et al., 1989) D'autres sources telles que l'eau, les céréales, les légumes et la viande sont aussi des sources du MeHg. La présence du MeHg est due à l'irrigation des sites d'agriculture qui sont parfois irrigués à long terme par des eaux contaminées et non traitées. Par conséquent, les couches supérieures du sol deviennent riches en mercure qui à son tour est observé au niveau des légumes, du blé et même l'herbe, qui y sont cultivés. (Shariatpanahi et al., 1986) Pour conclure, le poisson ainsi que les autres produits maritimes sont les contributeurs majeurs pour l'apport total de mercure, mais ceci ne signifie pas forcément que chaque population est exposée de la même manière. En effet, de nombreux facteurs participent à l'exposition telle que la diète, les pratiques alimentaires, la région géographique et l'interaction des nutriments.

Parmi tous les nutriments consommés, le sélénium a été observé comme étant un agent offrant une excellente protection contre l'intoxication au MeHg qui aurait eu lieu par la consommation de poissons et de fruits de mer. (Cone et al., 1976) En effet, le sélénium obtenu par l'entremise de la nourriture a un impact sur la vulnérabilité aux effets toxiques du MeHg. Les diètes riches en sélénium sont capables non seulement d'améliorer la prévention contre les effets du MeHg mais permettent aussi d'inverser le stress oxydatif le plus sévère. (Ralston et al., 2010) En effet, les sélénoenzymes sont requis afin de prévenir et de reverser le stress oxydatif à travers le corps et particulièrement le cerveau. (Ralston et al., 2010) Tout de même, aucune recherche épidémiologique n'a réussi à démontrer une corrélation entre l'apport de sélénium et l'absence des symptômes liés à la toxicité du MeHg. (Magos et al., 1991)

L'apport du gras a lui aussi été corrélé avec la toxicité du MeHg. Plus précisément, il existe une corrélation entre l'oxydation du LDL (lipoprotéine à basse densité - considéré comme étant le mauvais cholestérol) et le MeHg. En effet, le MeHg inhibe la paraoxonase qui est une enzyme qui ralentit l'oxydation du LDL. (Halbach et al., 1990). D'autres conditions, tel que la déficience en thiamine chez les populations du Nord du Canada peuvent interagir avec l'exposition au mercure. En effet, le MeHg oxyde la thiamine et nie sa valeur nutritionnelle. (Meltzer et al., 1994)

Il manque d'évidence à l'égard des effets des nutriments, vitamines et minéraux au niveau de la population, il existe de nombreuses évidences que les nutriments réagissent avec le métabolisme du mercure à des niveaux physiologiques. En effet, les nutriments sont capables d'affecter la biodisponibilité du mercure sachant que des nutriments tel que le sélénium sont capables de confisquer le mercure. De plus, dépendamment de la concentration du mercure et de certains nutriments tels que le sélénium, l'effet toxicodynamique du mercure sur les organes est affecté. (Atchison et al., 1994) Tout de même, avec une compréhension assez limitée des mécanismes de toxicité du MeHg, l'information disponible dans le domaine de la toxicologie est assez restreinte. (Magos et al., 1991) (Calabrese et al., 1980) (Levander et al., 1980)

Malgré le manque d'information à l'égard des mécanismes des effets des nutriments sur le MeHg, de nombreux types d'interactions ont été proposés. Parmi ces interactions, nous trouvons le poisson et plus spécifiquement les protéines du poisson qui sont capable de diminuer la toxicité des symptômes du MeHg due à la présence du Se. Le lait quant à lui permet l'augmentation de l'absorption du MeHg due à la présence des triglycérides.

Tout de même, malgré ces corrélations proposées, une mise en évidence d'un effet projectif ou antagoniste est souvent compliquée et très dépendante des conditions métaboliques de l'organisme. Par conséquent, d'un point de vue nutritionnel, les facteurs diététiques vont affecter la toxicité du MeHg, mais dû à un manque de données, il y a un besoin d'une revue extensive des différents facteurs qui influencent chroniquement la toxicité associée au MeHg. (Chapman et al., 2000)

7.4 Une vision de prévention en santé

La consommation de MeHg par une diète mixte peut avoir des effets importants sur la santé. Une perte d'appétit, un faible apport alimentaire, un faible apport d'eau, et une perte de poids sont tous des conséquences vus par l'exposition chronique au MeHg chez les jeunes. (Von Muhlendakl et al., 2004) L'implication du type de diète sur ces effets n'a toujours pas été

examinée. Tout de même, une déficience en terme de nutriments peut se développer due à l'apport chronique en mercure. (Bapu et al., 1994)

L'exposition au MeHg peut stimuler la formation de sélénure diméthylrique, qui est toxique et volatile et qui peut entraîner la perte du sélénium. Le MeHg est aussi associé avec un besoin croissant de vitamine E, B1 et C pour protéger contre la toxicité du MeHg. (Bapu et al., 1994)

Par conséquent, en réponse à de tels effets, des stratégies de prévention de production de mercure ont été développées à un niveau local, régional et international. Le Canada, les États-Unis et le Mexique ont développé un plan régional d'action d'une manière trilatérale. Ils ont déterminé six domaines de collaboration tels que 1) la gestion des émissions atmosphériques de mercure, 2) la gestion du mercure dans les procédés de fabrication, 3) les activités d'exploitation et les produits,

4) les méthodes de gestion de déchets contenant du mercure, recherche, surveillance, modélisation, évaluation, et inventaires, 5) activités de communication et 6) Application et observation. (Pilgrim et al., 2000) Environnement Canada et l'agence de protection environnementale des États-Unis, en consultation avec les tribus Aborigènes et les premières nations travaillent pour éliminer la libération persistante du mercure (Environment and climate change Canada., 2016). Finalement, Santé Canada a établie des lignes directrices pour les niveaux de mercure dans la plupart des poissons commerciaux, particulièrement si ceux-ci sont dédiés à la consommation. Tout de même, ces lignes directrices ont été critiquées due à leur simplicité sachant la complexité des impacts indirects du MeHg sur la santé et le mode de vie des populations indigènes. (Wheatley et al., 2000) (Dumont et al., 1998)

L'approche interdisciplinaire a permis de comprendre de nombreux aspects concernant l'exposition du MeHg et ses effets toxiques. D'un point de vue épidémiologique, la dose toxique de MeHg diffère dépendamment de nombreux facteurs. Par conséquent, en termes de politique et régulation environnementale, les agences régulatrices recommandent différents apports maximaux de MeHg consommé. Ceci pourra être expliqué par une vision nutritionnelle. En effet, les diètes et plus précisément les nutriments affectent directement ou indirectement les effets toxiques du MeHg. Finalement, une vision de prévention permettra de limiter la disponibilité du MeHg et par conséquent sa toxicité.

Chapitre 8: Conclusion

Le méthylmercure, les biphenyls polychlorés et les composées organochlorées sont tous des contaminants qui préoccupent la communauté scientifique et la santé publique à cause de leurs effets néfastes sur la santé. (Mori et al., 2013) (Hodgson et al., 2008) (Radikova et al., 2008) (Acton., 2012) (Patel et al., 2013) (Klaassen et al., 1996) (Mirzoian et al., 2002) Il existe dans la littérature de nombreuses études qui ont investigué les effets de chacun de ces contaminants individuellement sur les structures neurologiques des nourrissons à la suite d'une exposition périnatale. Malgré tout, nous observons que certaines populations demeurent affectées par ces contaminants dépendamment de leur régime alimentaire et emplacement géographique.

Les effets d'un mélange de substances toxiques dont les concentrations induisent un profil sanguin semblable à celui des femmes enceintes des populations nordiques et canadiennes ont été étudiés. Il existe des données sur les effets d'une exposition prénatale à ce mélange sur la progéniture, mais à notre connaissance, aucune étude aborde les effets d'un tel mélange sur les mères. (Padhi et al., 2008) (Muckle et al., 2001)

Utilisant le rat comme modèle animal, nous avons étudié l'effet de l'exposition à ce mélange et du MeHg sur le taux de survie de la progéniture ainsi que le nombre de neurones et astrocytes dans trois régions du cerveau pertinentes au comportement maternel, chez des mères durant la période post-partum. Cette exposition périnatale et post-partum a affecté plus précisément la région du CA3 de l'hippocampe mais aussi le MPOA, à la dose plus élevée, suggérant que ces régions, qui jouent un rôle important dans le comportement maternel, seraient potentiellement plus vulnérables. Les changements endocriniens et de plusieurs systèmes lors de la grossesse et de la période post-partum en font de celles-ci des périodes d'immense vulnérabilité au corps et en particulier au cerveau de la femme. Il est donc important de mieux comprendre la plasticité du cerveau lors de ces événements; une affliction au cerveau, même temporaire peut avoir comme conséquence un changement dans la qualité des soins maternels qu'apportent la mère, ce qui peut aussi influencer le développement neurologique de la progéniture.

Les résultats de la présente étude chez les mères ainsi que les protocoles de recherche chez les nourrissons démontrent que l'exposition à un ou plusieurs contaminants durant la grossesse et l'allaitement affecte le cerveau durant la période post-partum. Il est donc primordial d'encourager la mise en place de stratégies efficaces de prévention. L'Organisation mondiale de la santé, Santé Canada et Environmental Protection Agency essaient de mettre en place des politiques et règlements environnementaux afin de maintenir les niveaux de contaminants à des niveaux sécuritaires. (World Health Organization., 1990) (Feeley et al., 1999) Tout de même, malgré leurs efforts, nous observons que quelques populations sont affectées plus que d'autres, et ce, dépendamment de leur diète et leur emplacement géographique.

Annexe 1

Implantations utérines et Nourrissons vivants

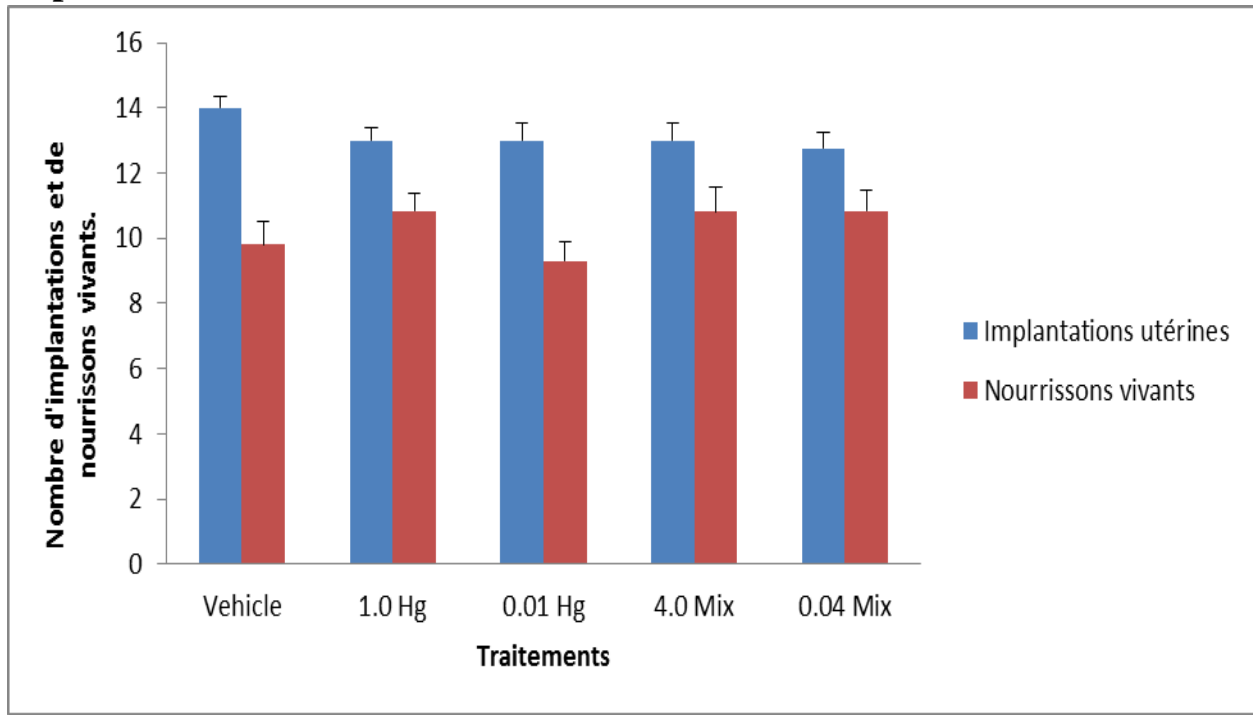


Figure 1: La différence du nombre d'implantations et de nourrissons vivants. L'axe des abscisses représente les différents traitements et l'axe des ordonnées représente le nombre d'implantations et de nourrissons vivants à la naissance. La barre bleu et rouge représente respectivement la moyenne du nombre d'implantations utérines et la moyenne du nombre de nourrissons vivants +/- l'erreur type. Aucune différence due au traitement a été retrouvée ($P > 0.05$).

Distributions des sexes

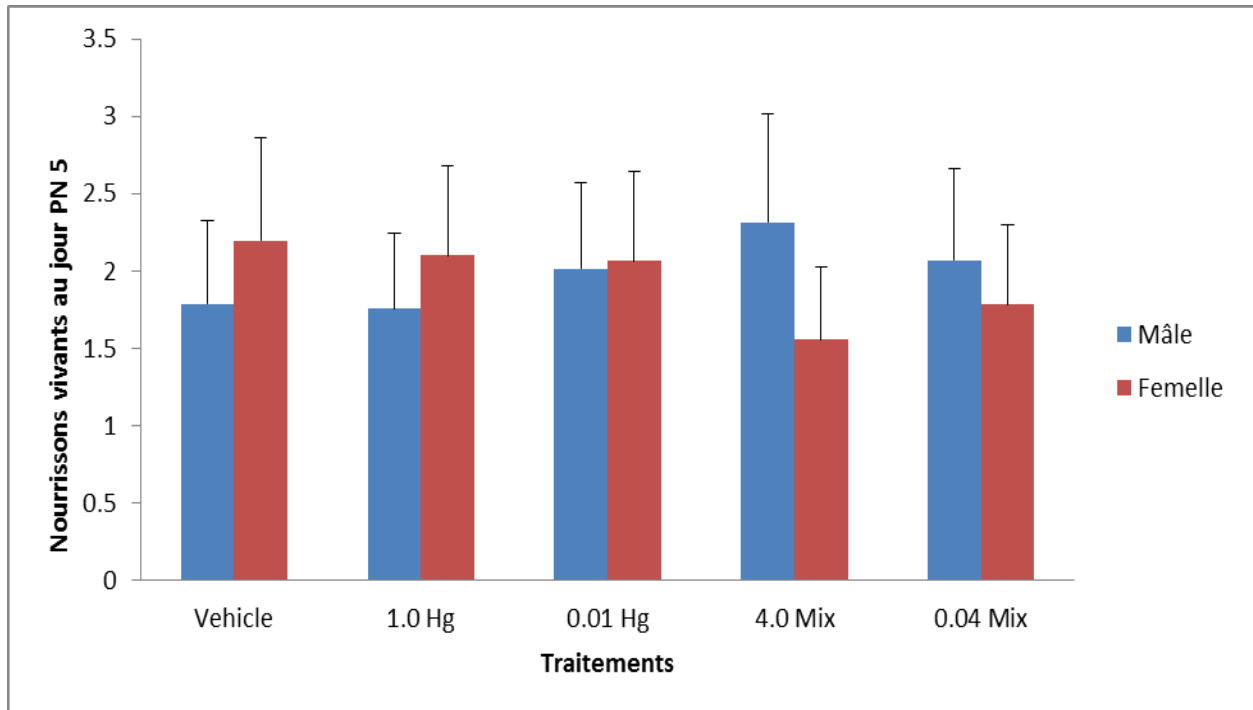


Figure 2: Le nombre de nourrissons vivants au jour PN5. L'axe des abscisses représente les différents traitements et l'axe des ordonnées représente le nombre moyen de nourrissons vivant (barre bleu sont les mâles et rouge les femelles) +/- l'erreur type. Aucune différence due au traitement a été retrouvée ($p > 0.05$).

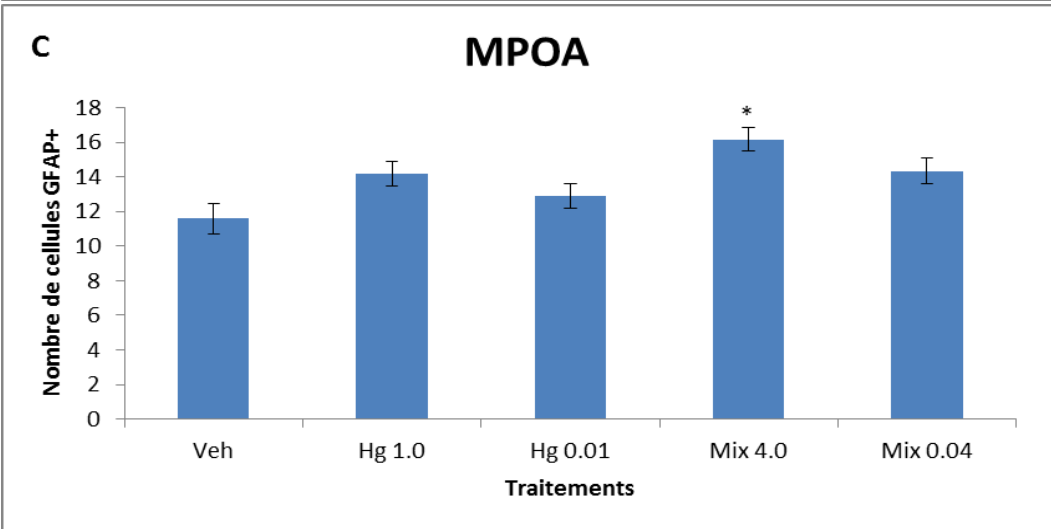
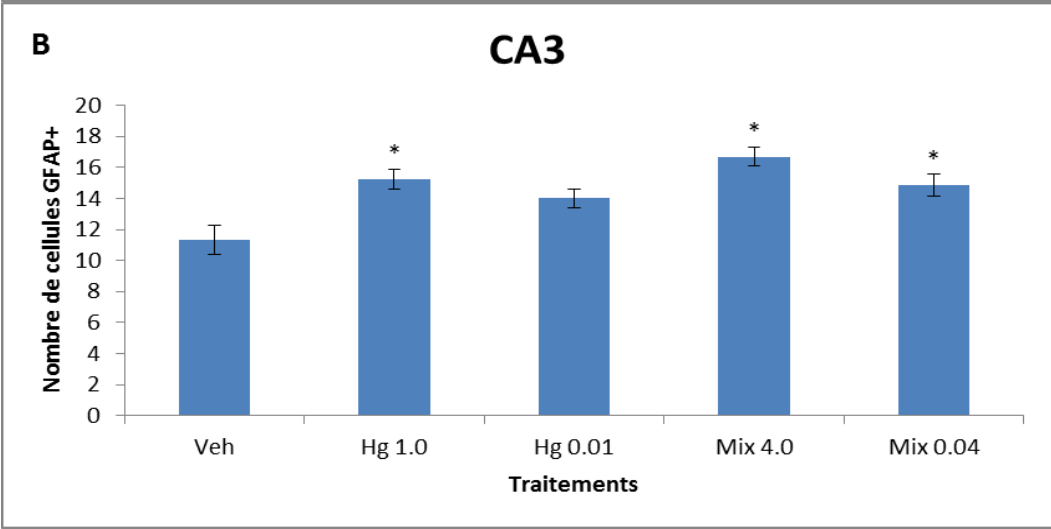
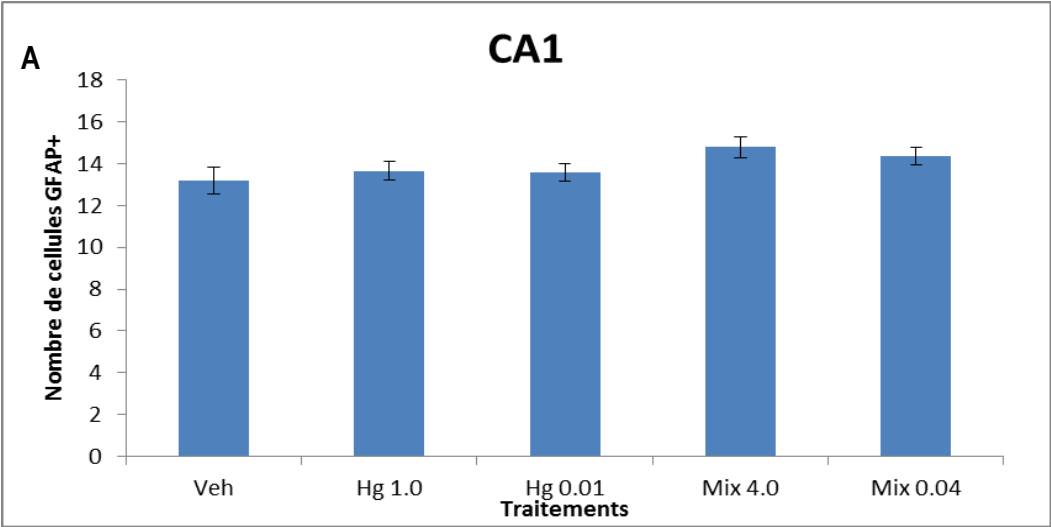


Figure 3: Nombre de Cellules GFAP+ dans (A) la région CA1 de l'hippocampe, (B) la région CA3 de l'hippocampe et (C) le MPOA. L'axe des abscisses représente les différents traitements et l'axe des ordonnées représente le nombre moyen de cellules GFAP+ (\pm erreur type).

* : Indique une différence significative du groupe contrôle $P < 0.05$).

Traîtement	Valeur de P
Mélange 0.04	0.015078
Hg 0.01	0.080875
Hg 1.0	0.008422
VEH	
Mélange 4.0	0.000547

Tableau 3 : Test Dunnett pour le GFAP au niveau de la région du CA3

Traîtement	Valeur de P
Mélange 0.04	0.070360
Hg 0.01	0.624575
Hg 1.0	0.092480
VEH	
Mélange 4.0	0.0016133

Tableau 4 : Test Dunnett pour le GFAP au niveau de la région du MPOA

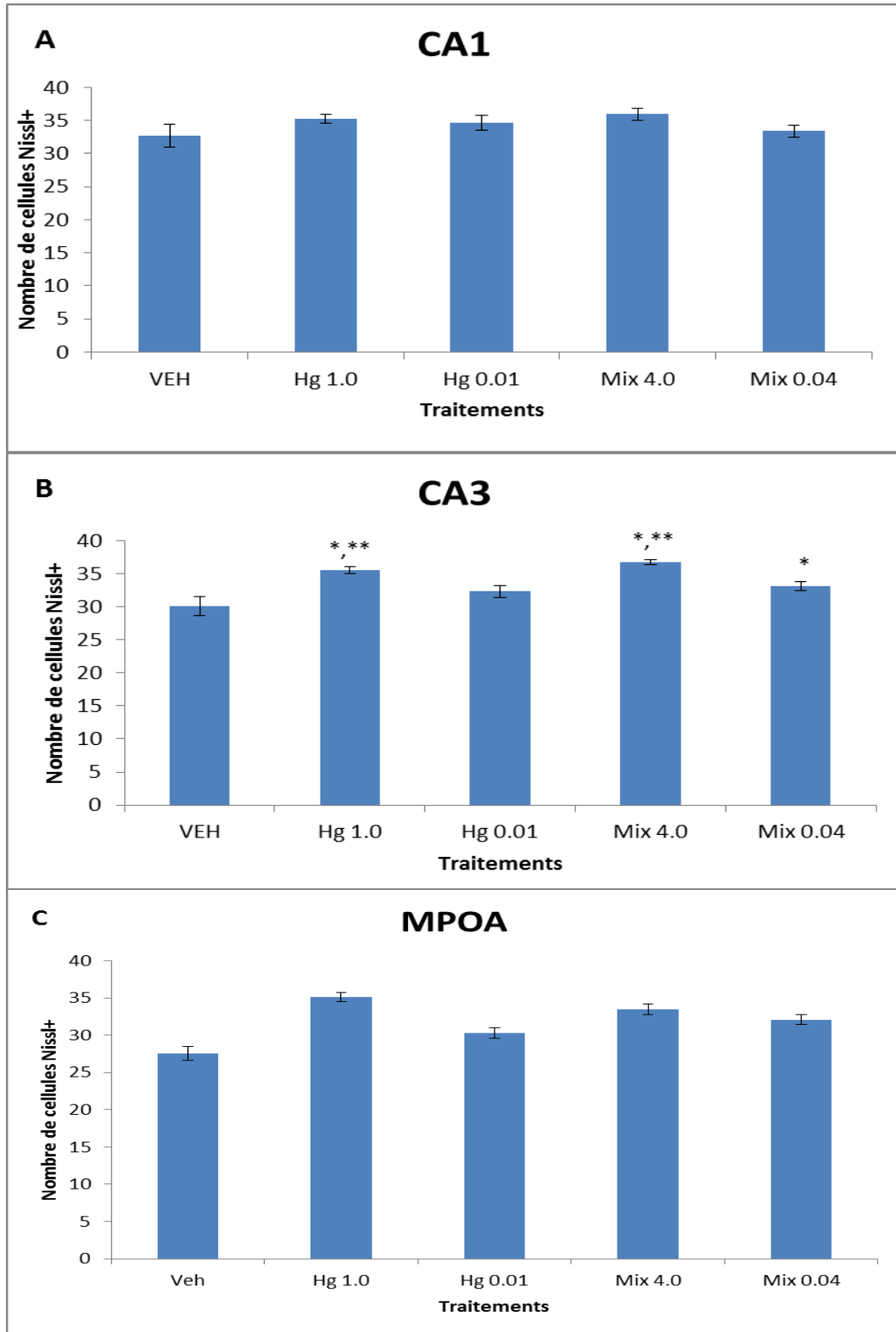


Figure 4: Nombre de Cellules NISSL+ dans (A) la région CA1 de l'hippocampe, (B) la région CA3 de l'hippocampe et (C) le MPOA. L'axe des abscisses représente les différents traitements et l'axe des ordonnées représente le nombre de cellules NISSL+. Chaque barre représente la moyenne des nombre de cellules NISSL+ (\pm erreur type).

* : Indique une différence significative du groupe témoin ($P < 0.05$).

** : Indique une différence entre la dose élevée et la dose basse d'une mémé produit ($P < 0.05$).

Traîtement	Valeur de P
Mélange 0.04	0.042388
Hg 0.01	0.210251
Hg 1.0	0.000204
VEH	
Mélange 4.0	0.000022

Tableau 5 : Test Dunnett pour le NISSL au niveau de la région du CA3

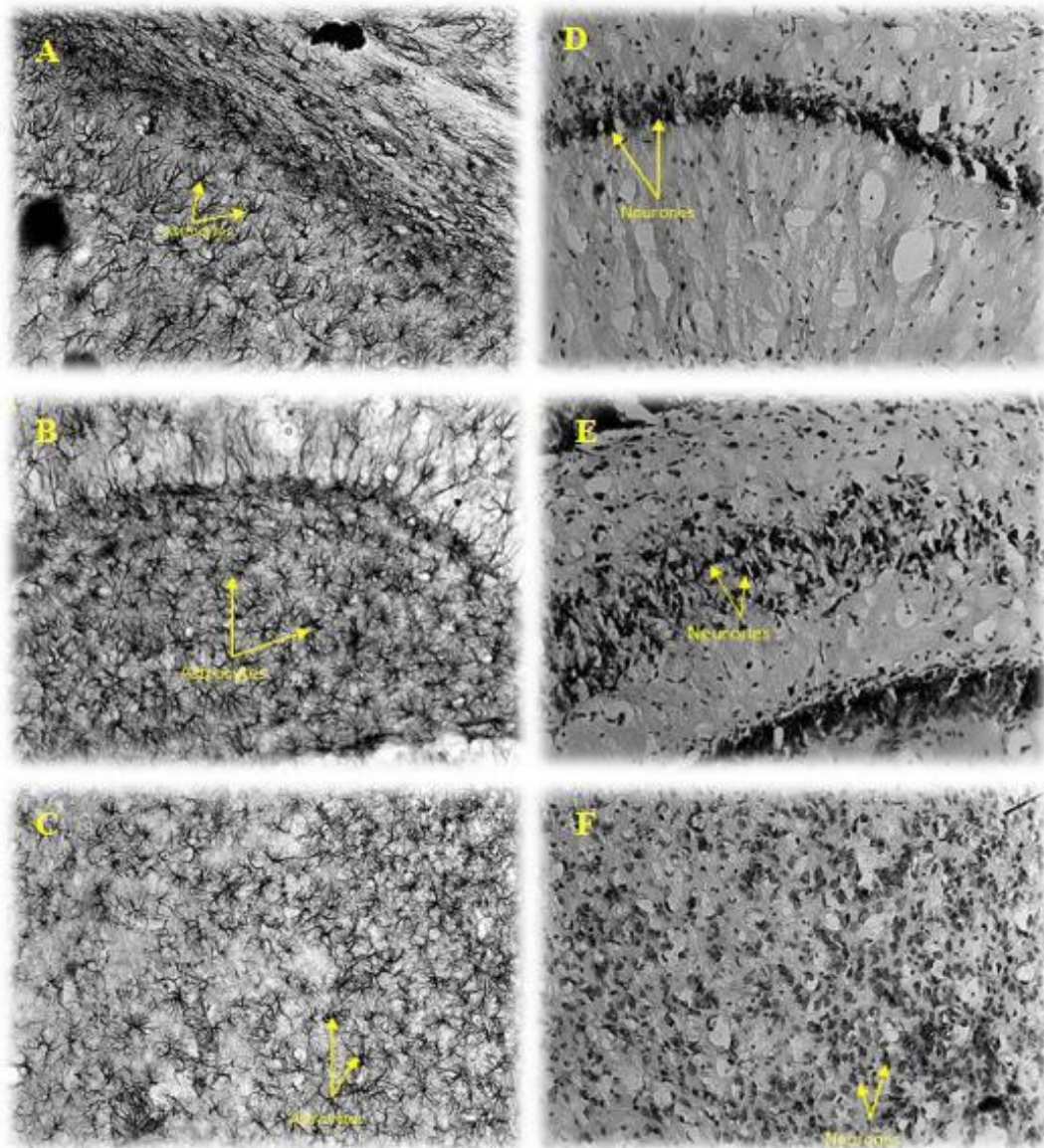


Figure 5 : Immunohistochimie du GFAP au niveau de (A) CA1 de l'hippocampe, (B) CA3 de l'hippocampe, et (c) MPOA et coloration du Nissl au niveau du (D) CA1 de l'hippocampe, (E) CA3 de l'hippocampe, et (F) MPOA du rat.

Photo prise avec Caméra sur microscope optique Zeiss à une magnification de 20X

Références

- Acton, Q. A. (2012). Ed. Advances in Overweight Research and Treatment. 2012 Edition. Scholarly Brief.
- Ahmed, R.G. (2013). Early weaning PCB 95 exposure alters the neonatal endocrine system: Thyroid adipokine dysfunction. *The Journal of Endocrinology*. 219(3), 205-215.
- Aitman, T.J., Critser, J.K., Cuppen, E., Dominiczak, A., Fernandez-Suarez, X.M., Flint, J., Alex, G. (2012). Supervised Sequence Labelling with Recurrent Neural Networks. University of Toronto Computer Science.
- Ali, S.F., LeBel, C.P., Bondy, S.C. (1992). Reactive oxygen species formation as a biomarker of methylmercury and trimethyltin neurotoxicity. *Neurotoxicology*. 13: 637–648.
- Allen, J.W., Shanker, G., Tan, K.H., Aschner, M. (2002). The consequences of methylmercury exposure on interactive functions between astrocytes and neurons. *Neurotoxicology* 23: 755–759.
- American Psychiatric Association. (2000). Diagnostic and statistical manual of mental disorders (4th ed., text rev.). Washington, DC.
- Amin-Zaki, L., Majeed, M.A., Greenwood, M.R., Elhassani, S.B., Clarkson, T.W., Doherty, R.A. (1981). Methylmercury poisoning in the Iraqi suckling infant: a longitudinal study over five years. *J Appl Toxicol*.

- Andersen, P., Bliss, T. V.P., and Skrede, K.K. (1971). Lamellar organization of hippocampal excitatory pathways. *Experimental Brain Research*. 13, 222-238.
- Andersen, P., Holmqvist, B., Voorhoeve, P., E. (1966). Entorhinal activation of dentate granule cells. *Acta Physiol. Scand.* 66, 461–472. 10.1111/j.1748-1716.1966.tb03224.x
- Andersen, P., Morris, R., Amaral, D., Bliss, T., O'Keefe, J. (2007). *The Hippocampus Book*. New York, NY: Oxford University Press.
- Aronsson, AM., Lind, B., Nylander, M., Nordberg, M. (1989). Dental amalgam and mercury. *Biol Metals* 2:25-30.
- Arrati, P., Carmona, C., Dominguez, G., Beyer, C., & Rosenblatt, J. (2006). GABA receptor agonists in the medial preoptic area and maternal behavior in lactating rats. *Physiology & Behavior*, 87(1), 51-65. doi:10.1016/j. physbeh.2005.08.048.
- Aschner, M., Clarkson, T.W. (1989). Methyl mercury uptake across bovine brain capillary endothelial cells in vitro: the role of amino acids. *Pharmacol Toxicol.* 64:293–297.

Atchison, R.E., Gosling, J., Monteclaro, F.S., Franci, C., Digilio, L., Charo, I.F., Goldsmith, M.A. (1996). Multiple extracellular elements of CCR5 and HIV-1 entry: dissociation from response to chemokines. *Science*.

Atchison, W. D., Hare, M.F. (1994). Mechanisms of methyl mercury induced neurotoxicity. *FASEB J* 8:622-629.

Bapu, C., Purohit, R.C., Sood, P.P. (1994). Fluctuation of trace elements during methylmercury toxication and chelation therapy. *Human Exp Toxicol.* 13:815-823.

Bapu, C., Vijaylakshmi, K., Sood, P.P. (1994). Comparison of monothiols and vitamin therapy administered alone or in combinations during methyl mercury poisoning. *Bull Environ Contam Toxicol.* 52:182-189.

Basset, T., Bach, P., Man, Chan, H. (2012). Effect of methylmercury on the secretion of pro-inflammatory cytokines from primary microglial cells and astrocytes.

Bear, M.F., Connors, B.W., Paradiso, M.A. (2007). *Neuroscience: exploring the brain*.

Bisen Hersh, E. B., Farina, M., Barbosa, F., Jr, Rocha, J. B., & Aschner, M. (2013). Behavioral effects of developmental methylmercury drinking water exposure in rodents. *Journal of*

Trace Elements in Medicine and Biology: Organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS).

Bowers, W., Nakai, J., Yagminas, A., Chu, I., Moir, D. (2004). Disentangling the developmental and neurobehavioural effects of perinatal exposure to a chemical mixture found in blood of Arctic populations: differential toxicity of mixture components. *Organohalogen Compd.* 66, 3112–3119.

Bradl, H, editor. (2002). *Heavy Metals in the Environment: Origin, Interaction and Remediation.* Volume 6. London: Academic Press.

Branchi, I., Curley, J.P., D'Andrea, I., Cirulli, F., Champagne, F.A., Alleva, E. (2013). Early interactions with mother and peers independently build adult social skills and shape BDNF and oxytocin receptor brain levels. *Psychoneuroendocrinology.* 38:522-32;

Brenner, M., Johnson, A.B., Boespflug-Tanguy, O., Rodriguez D, Goldman, J.E., (2001). Messing A. Mutations in GFAP, encoding glial fibrillary acidic protein, are associated with Alexander disease.

Bretveld, R. W., Thomas, C. M., Scheepers, P. T., Zielhuis, G. A., & Roeleveld, N. (2006).

Pesticide exposure: the hormonal function of the female reproductive system

Disrupted. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 4, 30

Bridges, R.S., Robertson, M.C., Shiu, R.P.C., Friesen, H.G., Stuer, A.M., & Mann, P.E. (1996). Endocrine communication between conceptus and mother: A Role for placental lactogens in the induction of maternal behaviour. *Neuroendocrinology*. 64, 57-64.

Bridges, R.S. (1984). MIF rediscovered: Cytokine, pituitary hormone, and glucocorticoid-induced regulator of the immune response. *FASEV Journal*. 10(14), 1607-1613.

Bridges, R.S., Numan, M., Ronsheim, P.M., Mann, P.E., Lupini, C.E. (1990). Central prolactin infusions stimulate maternal behavior in steroid-treated, nulliparous female rats. *Proc Natl Acad Sci USA*. 87(20):8003–8007.

Brown, D.A., Gähwiler, B.H., Griffith, W.H., Halliwell, J.V. (1990). Membrane currents in hippocampal neurons. *Prog Brain Res*.

Calabrese, E. J. (1980). *Nutrition and Environmental Health*, Vol 1. New York:John Wiley and Sons. 94-519. 65.

Carpenter, D.O., DeCaprio, A.P., O’Hehir, D., Akhtar, F., Johnson, G., Scudato, R.J., Apatiki, L., Kava, J., Gologergen, J., Miller, PK. (2005). Polychlorinated biphenyls in serum of the Siberian Yupik people from St. Lawrence Island, Alaska. *Int. J. Circumpolar Health*. 64(4):322–335.

Champagne, F., Diorio, J., Sharma, S., & Meaney, M.J. (2001). Naturally occurring variations in maternal behavior in the rat are associated with differences in estrogen-inducible central oxytocin receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 98:12736-12741.

Champagne, F. A., Curley, J. P. (2016). Plasticity of the maternal brain across the lifespan. In H. J. V.Rutherford ., L. C., Mayes. (Eds.). *Maternal brain plasticity: Preclinical and human research and implications for intervention. New Directions for Child and Adolescent Development*. 153, 9–21.

Champagne, F. A., & Meaney, M. J. (2006). Stress during gestation alters post-partum maternal care and the development of the offspring in a rodent model. *Biological Psychiatry*. 59(12), 1227–1235.

Champagne, F.A., Weaver, I.C., Diorio, J., Sharma, S., & Meaney, M.J. (2003). Natural variations in maternal care are associated with estrogen receptor alpha expression and estrogen sensitivity in the medial preoptic area. *Endocrinology*. 144:4720-4724.

Chapman, L., Chan, H. M. (2000). The influence of nutrition on methyl mercury intoxication. *Environ Health Perspect.Suppl*. 1:29-56.

Charleston, J.S., Bolender, R.P., Mottet, N.K., Body, R.L., Vahter, M.E., Burbacher, T.M. (1994). Increases in the number of reactive glia in the visual cortex of *Macaca fascicularis* following Subclinical long-term methyl mercury exposure. *Toxicol Appl Pharmacol*.

Chevrier, C., Warembourg, C., Gaudreau, E., Monfort, C., Le Blanc, A., Guldner, L., Cordier, S. (2013). Organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls, seafood consumption, and time-to-pregnancy. *Epidemiology (Cambridge, Mass.)*. 24(2), 251-260.

Chevrier, J., Eskenazi, B., Holland, N., Bradman, A., & Barr, D. B. (2008). Effects of Exposure to Polychlorinated Biphenyls and Organochlorine Pesticides on Thyroid Function during Pregnancy. *American Journal of Epidemiology*. 168(3), 298–310. <http://doi.org/10.1093/aje/kwn136>

Chevrier, J., Eskenazi, B., Holland, N., Bradman, A., & Barr, D. B. (2008). Effects of Exposure to Polychlorinated Biphenyls and Organochlorine Pesticides on Thyroid Function during pregnancy. *American Journal of Epidemiology*.

Chu, I., Bowers, W.J., Caldwell, D., Nakai, J., Wade, M.G., Yagminas, A., Li, N., Moir, D., El Abbas, L., Hakansson, H., Gill, S., Mueller, R., Pulido, O. (2008). Toxicological effects of in utero and lactational exposure of rats to a mixture of environmental contaminants detected in canadian arctic human populations. *J. Toxicol. Environ. Health A* 71, 93–108.

Clark, R. E., & Squire, L. R. (2013). Similarity in form and function of the hippocampus in rodents, monkeys, and humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 110(Suppl 2).10365–10370.
<http://doi.org/10.1073/pnas.1301225110>

Clarkson, T. (1991). Methylmercury. *Fundam Appl Toxicol*.16:20-21.

Correia, Carreira., S., Cartwright, L., Mathiesen, L., Knudsen, L. E., & Saunders, M. (2011). Studying placental transfer of highly purified non-dioxin-like PCBs in two models of the placental barrier. *Placenta*. 32(3), 283-291.

Cuvin-Aralar, M. L. A., Furness, R. W. (1991). Mercury and seleniuminteraction: a review. *Ecotoxicol. Environ Safe*. 21:348-364.

David, G., Helen, E., Pierre. (2007). The dentate gyrus: fundamental neuroanatomical organization (dentate gyrus for dummies). *Progress Brain Res*. 163:3-22.

Davidson, P.W., Myers, G.J., Cox, C., Axtell, C., Shamlaye, C., Sloanereeves, J., Cernichiari, E., Needham, L., Choi, A., Wang, Y.N., et al. (1998). Effects of prenatal and postnatal methyl mercury exposure from fish consumption on neurodevelopment - outcomes at 66 months of age in the Seychelles child development study. *JAMA* 280(8):701-707, 25.

Díez, S., Delgado, S., Aguilera, I., Astray, J., Pérez-Gómez, B., Torrent, M., . . . Bayona, J. M. (2008). Prenatal and Early Childhood Exposure to Mercury and Methylmercury in Spain, a High-Fish- Consumer Country. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 56(3), 615-622. doi:10.1007/s00244-008-9213- 7.

Dockery, D. W., Pope, C. A.,3rd, Xu, X., Spengler, J. D., Ware, J. H., Fay, M. E., Ferris, B. G. Jr., Speizer, FE. (1993). An association between air pollution and mortality in six U.S. cities. *The New England Journal of Medicine*. 329(24), 1753-1759.

Döhler, K., Coquelin, A., Davis, F., Hines, M., Shryne, J., & Gorski, R. (1984). Pre - and postnatal influence of testosterone propionate and diethylstilbestrol on differentiation of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area in male and female rats. *Brain Research*. 302(2), 291-295. doi:10.1016/0006-8993(84)90242-7 doi:10.1542/peds.100.6.1035.

Dumont, C., Girard, M., Bellevance, F., Noel, F. (1998). Mercury levels in the Cree population of James Bay, Quebec, from 1988 to 1993/94 [Abstract]. *CMAJ*;158(11):1439-45.

Elabbas, L. E., Finnila, M. A., Herlin, M., Stern, N., Trossvik, C., Bowers, W. J., Nakai, J., Tuukkanen, J., Heimeier, RA., Åkesson, A., Håkansson, H,. (2011). Perinatal exposure to environmental contaminants detected in Canadian arctic human populations changes bone

geometry and biomechanical properties in rat offspring. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A.* 74(19), 1304-1318.

El-Fawal, H. A., Gong, Z., Little, A. R., & Evans, H. L. (1996). Exposure to methyl mercury results in serum autoantibodies to neurotypic and gliotypic proteins. *Neurotoxicology.* 17(1), 267-276.

Emack, J., Kostaki, A., Walker, C. D., & Matthews, S. G. (2008). Chronic maternal stress affects growth, behaviour and hypothalamo-pituitary-adrenal function in juvenile offspring. *Hormones and Behavior.* 54(4), 514-520.

Eng, LF., Ghirnikar, RS., Lee, YL. (2000). Glial fibrillary acidic protein: GFAP -thirty-one years (1969–2000). *Neurochem Res.* 25:1439–1451.

Featherstone, R. E., Fleming, A. S., Ivy, G. O. (2000). Plasticity in the maternal circuit: Effects of experience and partum condition on brain astrocyte number in female rats. *Behavioral Neuroscience.* 114(1), 158-172.

Febo, M., Segarra, A. C., Stolberg, T. L., and Ferris, C. F. (2011). BOLD signal response to cocaine varies with sexual receptivity in female rats. *Neuroreport.* 22, 19–22. doi:10.1097/WNR.0b013e3283416f81.

Feeley, M.M., Lo, M.T. (1999). Risk assessment for mercury in Health Canada - development of the provisional tolerable daily intake (pTDI) value. In: Mercury in Eastern Canada and the Northeast States. Proceedings of the Conference, 21-23 September (1998). Fredericton, New Brunswick. New Brunswick, Ontario, Canada. Ecological Monitoring and Assessment Network.

Fenster, L., Eskenazi, B., Anderson, M., Bradman, A., Harley, K., Hernandez, H., Hubbard, A. & Barr, D.B. (2006). Association of in utero organochlorine pesticide exposure and fetal growth and length of gestation in an agricultural population. *Environmental Health Perspectives*. 114(4), 597-602.

Fleming, A.S., Ruble, D., Krieger, H., & Wong, P.Y. (1997). Hormonal and experimental correlates of maternal responsiveness during pregnancy and the puerperium in human mothers. *Hormones & Behaviour*. 31(2), 145-158.

Fleming, A.S., Ruble, D., Krieger, H., Wong, P.Y. (1997). Hormonal and experiential correlates of maternal responsiveness during pregnancy and the puerperium in human mothers. *Horm Behav*.

Foldspang, A., Hansen, J.C. (1990). Dietary intake of methylmercury as a correlate of gestational length and birth weight among newborns in Greenland. *Am J Epidemiol*. 132:310-317.

- Frankfurt, M., Salas-Ramirez, K., Friedman, E., & Luine, V. (2011). Cocaine alters dendritic spine density in cortical and subcortical brain regions of the post-partum and virgin female rat. *Synapse*. 65(9), 955-961. doi:10.1002/syn. 20918.
- Freire, C., Koifman, R. J., Sarcinelli, P., Rosa, A. C., Clapauch, R., Koifman, S. (2012). Long term exposure to organochlorine pesticides and thyroid function in children from cidade dos meninos, rio de janeiro, brazil. *Environmental Research*. 117, 68-74.
- Fuchs, T. (2005). Corporealized and disembodied minds: A phenomenological view of the body in melancholia and schizophrenia, *Philosophy, Psychiatry & Psychology*. 12, pp. 95–107.
- Fujimura, M., Usuki, F. (2015). Methylmercury causes neuronal cell death through the suppression of the TrkA pathway: In vitro and in vivo effects of TrkA pathway activators. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 282(3), 259-266. doi:10.1016/j.taap.2014. 12.008.
- Fujishita, K., Ozawa, T., Shibata, K., Tanabe, S., Sato, Y., et al. (2009). Grape seed extract acting on astrocytes reveals neuronal protection against oxidative stress via interleukin-6-mediated mechanisms. *Cell Mol Neurobiol*. 29: 1121–1129.
- Galal-Gorchev, H. (1993). Dietary intake, levels in food and estimated intake of lead, cadmium, and mercury. *Food Addit Contam*. 10:115-128.

Galea, L. A., Spritzer, M. D., Barker, J. M., Pawluski, J. L. (2006). Gonadal hormone modulation of hippocampal neurogenesis in the adult. *Hippocampus*.

Garcia-Segura, L. M., Chowen, J. A., Naftolin, F. (1996). Endocrine glia: roles of glial cells in the brain actions of steroid and thyroid hormones and in the regulation of hormone secretion. *Front Neuroendocrinol.* (2):180-211.

Gartner, L. M. (2005). Breastfeeding and the Use of Human Milk. *Pediatrics.* 100(6), 1035-1039.

Gauguier, D., Geurts, A.M., Gould, M., Harris, P.C., et al. (2008). Progress and prospects in rat Genetics: a community view. *Nat Genet.* 40, 516–522

Gifford, G., Quadros, P., & Kinsley, C. (1998). Alterations in Astrocytes may accompany changes in reproductive condition in the female rat. Paper presented at the annual meeting of the Virginia Academy of Sciences, May.

Gilbert, SG., Grant-Webster, K. (1995). Neurobehavioral effects of developmental methylmercury exposure. *Environ Health Perspect.* 103(suppl 6):135-142.

Gomora-Arrati, P., Gonzalez-Arenas, A., Balandran-Ruiz, M. A., Mendoza-Magana, M. L., Gonzalez-Flores, O., Camacho-Arroyo, I. (2010). Changes in the content of GFAP in the rat

brain during pregnancy and the beginning of lactation. *Neuroscience Letters*. 484(3), 197-200.

Gorski, R. A., J. H. Gordon, J. E. Shryne, and A. M. Southam. (1978). Evidence for a morphological sex difference within the medial preoptic area of the rat brain. *Brain Res*. 148: 333-346.

Government of Canada, Environment and Climate Change Canada. (2016, March 08). Environment and Climate Change Canada - Pollution and Waste - Canadian Mercury Science Assessment Executive Summary. Retrieved May 10, 2017. from <https://www.ec.gc.ca/mercure-mercury/default.asp?lang=En&n=A2D7E54F-1>.

Grandjean, P., Weihe, P., White, RF., Debes, F. (1998). Cognitive performance of children prenatally exposed to safe levels of methyl mercury. *Environ Res*. 77:165-172.

Greene, J. G., Noorian, A. R., Srinivasan, S. (2009). Delayed gastric emptying and enteric nervous system dysfunction in the rotenone model of Parkinson's disease. *Exp Neurol*.

Greenwood, M. R. (1985). Methylmercury poisoning in Iraq. An epidemiological study of the 1971—1972 outbreak. *J. Appl. Toxicol*. 5: 148—159. doi:10.1002/jat.2550050305.

Greenwood, M. R. (1985). Methylmercury poisoning in Iraq. An epidemiological study of the 1971—1972 outbreak. *J. Appl. Toxicol.* 5: 148–159. doi:10.1002/jat.2550050305.

Habnum, Nabi. (2004). Methylmercury and Thimerosal. *Toxic Effects of Mercury*. pp 219-232.

Halbach, S. (1990). Mercury compounds: lipophilicity and toxic effects on isolated myocardial tissue. *Archives of Toxicology*.64(4):315–319. [PubMed]

Hamby, M. E., Sofroniew M. V. (2010). Reactive astrocytes as therapeutic targets for CNS disorders. *Neurotherapeutics*. 7, 494–506 10.1016/j.nurt. 2010.07.003.

Hayman, L. A., Fuller, G. N., Cavawos, J. E., Pflieger, M. J., Meyers, C. A., Jackson, E. F., (1998). *The hippocampus: normal anatomy and pathology*.

Health Canada. (2005). It's Your Health. Retrieved November 10, 2013. from <http://www.hc-sc.gc.ca/hl-vs/iyh-vsv/environ/pcb-bpc-eng.php>.

Heit, M. and M. Fingerman (1977). The influence of size, sex and temperature on the toxicity of mercury to two species of crayfishes. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 18:572-580.

Herreras, O., Solis, J. M., Martin Del Rio R., Lerma J. (1987). Characteristics of CA1 activation through the hippocampal trisynaptic pathway in the unanaesthetized rat. *Brain Res.* 413, 75–86. [10.1016/0006-8993\(87\)90155-7](https://doi.org/10.1016/0006-8993(87)90155-7).

Hodgson, S., Thomas, L., Fattore, E., Lind, P. M., Alfven, T., Hellström, L., Jarup, L. (2008). Bone Mineral Density Changes in Relation to Environmental PCB Exposure. *Environmental Health Perspectives.* 116(9), 1162–1166. <http://doi.org/10.1289/ehp.11107>.

Hong, Y.-S., Kim, Y.-M., & Lee, K.-E. (2012). Methylmercury Exposure and Health Effects. *Journal of Preventive Medicine and Public Health.*45(6), 353–363. <http://doi.org/10.3961/jpmph.2012.45.6.353>.

Hong, Y. S., Kim, Y. M., & Lee, K. E. (2012). Methylmercury exposure and health effects. *Journal of Preventive Medicine and Public Health = Yebang Uihakhoe Chi.* 45(6), 353 363.

Hornig, J. F. (1999). Social and Environmental Impacts of the James Bay Hydroelectric Project.

Howard, A. S., Fitzpatrick, R., Pessah, I., Kostyniak, P., & Lein, P. J. (2003). Polychlorinated biphenyls induce caspase-dependent cell death in cultured embryonic rat hippocampal but not cortical neurons via activation of the ryanodine receptor. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 190(1), 72-86.

Howard, A. S., Fitzpatrick, R., Pessah, I., Kostyniak, P., Lein, P, J. (2003). Polychlorinated biphenyls induce caspase-dependent cell death in cultured embryonic rat hippocampal but not cortical neurons via activation of the ryanodine receptor. *Toxicol Appl Pharmacol.* 190:72–86.

Hull, E. M., Dominguez, J. M. (2007). Sexual behavior in male rodents. *Horm Behav.* ;52(1):45–55. Iannaccone, P. M., & Jacob, H. J. (2009). Rats! *Disease Models & Mechanisms.* 2(5-6), 206–210. <http://doi.org/10.1242/dmm.002733>.

Cone, J. E., de1 Rio. R., Davis. J., N., Stadtman, T. C., (1976) *Proc. Acad. Sci. uSA.* 83, ‘659

Jacob, H. J. (1999). Functional Genomics and Rat Models. *Genome Research.* 9(11), 1013-1016. doi:10.1101/gr.9.11.1013.

Jain, K. K. (2017). Biomarkers of Disorders of the Nervous System. In: *The Handbook of Biomarkers.* Humana Press. New York. NY.

Jarrard, L. E.,(1993). On the role of the hippocampus in learning and memory in the rat. Department of Psychology. Washington and Lee University, Lexington, Virginia. 24450.

Jayaraj, R., Megha, P., Sreedev, P. (2016). Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. *Interdisciplinary Toxicology.* 9(3-4), 90–100. <http://doi.org/10.1515/intox-2016-0012>.

Jayaraj, R., Megha, P., & Sreedev, P. (2016). Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. *Interdisciplinary Toxicology*. 9(3-4), 90–100. <http://doi.org/10.1515/intox-2016-0012>.

Jayasena, C. N., Nijher, G. M., Comminos, A. N., Abbara, A., Januszewski, A., Vaal, M. L., Sriskandarajah, L., Murphy, K. G., Farzad, Z., Ghatei, M. A., et al. (2011). The effects of kisspeptin-10 on reproductive hormone release show sexual dimorphism in humans. *J Clin Endocrinol Metab*.

Joan, O. Grimalt, Jordi, Sunyer., Victor, Moreno., Osvaldo, C.. Amaral, María. Sala., Antoni, Rosell., Josep, M., Anto, Joan. Albaiges. (1994). Risk excess of soft-tissue sarcoma and thyroid cancer in a community exposed to airborne organochlorinated compound mixtures with a high hexachlorobenzene content. *Human Cancer*.

Jones, P. D., Hannah, D. J., Buckland, S. J., Day, P. J., Leathem, S. V., Porter, L. J., Auman, H. J., Sanderson, J. T., Giesy, J. P., Summer, C., Ludwig, J. P. and Colborn, T. L. (1996). Persistent synthetic chlorinated hydrocarbons in albatross tissue samples from midway atoll. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 15: 1793–1800. doi:10.1002/etc.5620151021.

Jung-Testas, I., Hu, Z.Y., Baulieu, E. E., Robel, P. (1989). Steroid Synthesis in rat brain cell cultures. *Journal of steroid Biochemistry*. 34, 511-519.

Kandel, E.R., Schwartz, J.H. (1985). *Principles of Neuroscience: Second Edition*. New York: Elsevier Science Publishing Co. Inc.

Karakaş, P., Bozkir, M. G., Dere, F., Melik, E., Melik, E. B., Kaya, M., & Polat, S. (2009). The effects of maternal deprivation on the hippocampal structure in adult rats. *The Canadian journal of neurological sciences. Le journal canadien des sciences neurologiques*. 3, 356–362.

Kesner, R. P. (2013). A process analysis of the CA3 subregion of the hippocampus. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 7, 78. <http://doi.org/10.3389/fncel.2013.00078>.

Keyser-Marcus, L., Stafisso-Sandoz, G., Kinsley, C.H. (2001). Alterations of medial preoptic area neurons following pregnancy and pregnancy-like steroidal treatment in the rat. *Brain Research Bulletin*. 55(6), 737-745.

Kim, P., Strathearn, L., Swain, J. E. (2016). The maternal brain and its plasticity in humans. *Hormones and Behavior*. 77, 113–123. <http://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2015.08.001>.

Kinsley, C.H., Lambert, K. G. (2008). Reproduction-induced neuroplasticity: natural behavioural and neuronal alterations associated with the production and care of offspring. *J Neuroendocrinol*. 20: 515–525.

Kinsley, C. H., Madonia, L. Trainer, R., Gifford, G., Griffin, G. R., Miller, S., Tureski, K., Lambert, K. G., (1998). Motherhood enhances learning and memory: Accompanying alterations in neuronal and glial morphology. Presented at the Annual Meeting of the Society for Neuroscience. Los Angeles, CA.

Klaassen, C.D. (1996). Heavy metals and heavy-metal antagonists, in Goodman & Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. J.G. Hardman and L.E. Limbird, Editors. McGraw-Hill: New York, NY.

Kohama, S.G., Goss, J.R., McNeill, T.H., & Finch, C.E. (1995). Glial fibrillary acidic protein mRNA increases at proestrus in the arcuate nucleus of mice. *Neuroscience Letter*. 183, 164-166.

LaKind, J.S., Amina, Wilkins., A., Berlin, C. M.(2004). Environmental chemicals in human milk: a review of levels, infant exposures and health, and guidance for future research. *Toxicol Appl Pharmacol*. 198:184–208.

Lam, H. S., Kwok, K. M., Chan, P. H., So, H. K., Li, A. M., Ng, P. C., FoK, T. F. (2013). Long term neurocognitive impact of low dose prenatal methylmercury exposure in hong kong. *Environment International*. 54, 59-64.

Lapper, S. R., Bolam, J. P. (1992). Input from the frontal cortex and the parafascicular nucleus to cholinergic interneurons in the dorsal striatum of the rat. *Neuroscience*. 1992;51:533–545. doi: 10.1016/0306-4522(92)90293-B.

LE, J. (2018). On the role of the hippocampus in learning and memory in the rat. – PubMed. NCBI. [online] Ncbi.nlm.nih.gov. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8216164> [Accessed 12 Jan. 2018].

Lebel, J., Mergler, D., Branches, F., Lucotte, M., Amorim, M., Larribe, F., et al. (1998). Neurotoxic effects of low-level methylmercury contamination in the Amazonian Basin. *Envir Res*.79:20-32.

Leutgeb, S., Leutgeb, J., Moser, M., Moser, E., (2005). “Place cells, spatial maps and the population code for memory”. *Current Opinion in Neurobiology*. vol. 15. no. 6, pp. 738–746, 2005.

Leutgeb, S., Leutgeb, J., Treves, A., Moser, M., Moser, E., (2004). “Distinct ensemble codes in hippocampal areas CA3 and CA1”. *Science*. vol. 305, no. 5688, pp. 1295–1298, 2004.

Levander, O. A., Cheng, L. (1980). Micronutrient Interactions, Vitamins, Minerals, and Hazardous Elements. *Ann NY Acad Sci.* 355:1-372.

Levin, E. D., Wilkerson, A., Jones, J. P., Christopher, N. C., Briggs, S. J. (1996). Nicotine effects on memory in rats: Pharmacological and behavioral challenges. *Developmental Brain Research.* 97, 207–215. doi:10.1016/S0165-3806(96)00144-7.

Lichtensteiger, W., Ribary, U., Schlumpf, M., Odermatt, B., & Widmer, H. R. (1988). Prenatal adverse effects of nicotine on the developing brain. *Prog Brain Res.* 73, 137–157. Doi:10.1016/S0079-6123(08)60502-6.

Liedtke, W., Edelmann, W., Bieri, P. L., Chiu, F. C., Cowan, N. J., Kucherlapati, R., & Raine, C. S, (1996).

Lin, Y., Min, L., Huang, Q., Chen, Y., Fang, C., Sun, X., Dong, S. (2013). The combined effects Of DEHP and PCBs on phospholipase in the livers of mice. *Environmental Toxicology.*

Li, R., Johnson, A.B., Salomons, G., Goldman, J.E., Naidu, S., Quinlan, R., Cree, B., Ruyle, S. Z., Banwell, B., D’Hooghe, M., et al. (2005). Glial fibrillary acidic protein mutations in infantile, juvenile, and adult forms of Alexander disease.

Liedtke, W., Edelman, W., Bieri, P.L., Chiu, F.C., Cowan, N.J., Kucherlapati, R., Raine, C.S. (1996). GFAP is necessary for the integrity of CNS white matter architecture and long-term maintenance of myelination. *Neuron*. 17(4), 607–615. doi:10.1016/S0896-6273(00)80194-4.

Liu, D., Diorio, J., Day, J. C., Francis, D. D., Meaney, M. J. (2000). Maternal care, Hippocampal synaptogenesis and cognitive development in rats. *Nature neuroscience*. 8, 799–806.

Llop, S., Ballester, F., Estarlich, M., Esplugues, A., Rebagliato, M., Iñiguez, C. (2010). Preterm birth and exposure to air pollutants during pregnancy. *Environ Res*.110(8):778-85.

Long, H., Nelson, L. S., Metals, metalloids. In: Tintinalli, J.E., Kelen, G. D., Stapczynski, J.S., Ma. OJ., Cline, D. M., eds. (2004). *Emergency Medicine: A Comprehensive Study Guide*. 6th ed. New York, NY: McGraw-Hill. chap 184.

Lorente, de Nó R. (1934). Studies on the structure of the cerebral cortex: continuation of the study of the ammonic system. *J. Psychol. Neurol*. 46, 113–177.

MacDonald, D. D., Ingersoll, C. G., Berger, T. (2000a). Development and evaluation of consensusbased sediment quality guidelines for freshwater ecosystems. *Arch Environ Contam Toxicol*. 39:20-31.

MacLeod, J. C. Pessah, E. (1973). Temperature effects on mercury accumulation, toxicity and metabolic rate in rainbow trout. (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Res. Board Can.* 30:485-492.

Madonia, L., Gifford, G. Tureski, K., & Kinsley, C. (1998). Parity and spatial learning.

Poster session presented at the annual University of Richmond Research symposium. April.

Magos, L., Peristianis, G. C., Clarkson, T. W., Brown, A., Preston, S., Snowden, R. T. (1981). Comparative study of the sensitivity of male and female rats to methylmercury. *Arch Toxicol.*

Magos, L. (1982). Neurotoxicity, anorexia and the preferential choice of antidote in methylmercury intoxicated rats. *Neurobehav Toxicol Teratol.* 4:643-646.

Magos, L. (1991). Overview on the protection given by selenium against mercurials. In: *Advances in Mercury Toxicology* (Suzuki T, Imura N, Clarkson TW, eds). New York:Plenum Press. ;289-297.

Mahaffey, K., Clickner, R., Jeffries, R. (2008). Methylmercury and omega-3 fatty acids: Co-occurrence of dietary sources with emphasis on fish and shellfish. *Environ. Res.* 107:20–29.

Makri, A., Goveia, M., Balbus, J., Parkin, R. (2004). Children's susceptibility to chemicals: a review by developmental stage. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*.

Malfa, G. A., Tomasello, B., Sinatra, F., Villaggio, G., Amenta, F., Avola, R., Renis, M. (2014).

"Reactive" response evaluation of primary human astrocytes after methylmercury exposure.

Journal of Neuroscience Research. 92(1), 95-103.

Malou, P. H. Schreurs, Emily. M., Houston, Victor. May., Marilyn. J. Cipolla. The adaptation of the blood-brain barrier to vascular endothelial growth factor and placental growth factor during pregnancy.

Marissen, M. A., Arnold, N., & Franken, I. H. (2012). Anhedonia in borderline personality disorder and its relation to symptoms of impulsivity. *Psychopathology*. 45(3), 179-184.

Marshall, L., Weir, E., Abelsohn, A., Sanborn, M. D. (2002). Identifying and managing adverse environmental health effects: 1. taking an exposure history. *CMAJ : Canadian Medical Association Journal = Journal De l'Association Medicale Canadienne*. 166(8), 1049-1055.

Marsh, D. O., Clarkson, T. W., Myers, G. J., Davidson, P. W., Cox, C., Cernichiari, E., Tanner, M. A., Lednar, W., Shamlaye, C., Choisy, D. (1995). The Seychelles study of fetal methylmercury exposure and child development: introduction. *Neurotoxicology*. 16:583-596.

McEwen, B. S. (2006). Protective and damaging effects of stress mediators: central role of the brain. *Dialogues Clin Neurosci.* 8:367–8.

McKenney, C. L., Jr., J. D. Costlow, Jr. (1981). The effects of salinity and mercury on developing megalopae and early crab stages of the bluecrab *Callinectes sapidus* Rathbun. In: *Biological Monitoring of Marine Pollutants*, eds. F. J. Vernberg, A. Calabrese, F. P. Thurberg, W. B. Vernberg. pp. 241-262. Academic Publishers New York.

McKeown-Eyssen, G., Ruedy, J., Neims, A. (1983). Methylmercury exposure in northern Quebec. II: Neurological findings in children. *Am J Epidemiol* ;118:470-9. [MEDLINE]

Meltzer, H. M., Mundal, H. H., Alexander, J., Bibow, K., Ydersbond, T.A. (1994). Does dietary arsenic and mercury affect cutaneous bleeding time and blood lipids in humans? *Biol Trace Elem Res.* 46:135-153.

Minagar, A., Shapshak, P., Fujimura, R., Ownby, R., Heyes, M., Eisdorfer, C. (2002). The role of macrophage/microglia and astrocytes in the pathogenesis of three neurologic disorders. HIV-associated dementia, Alzheimer disease, and multiple sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences.* 202(1-2):13–23. Doi: 10.1016/s0022.

Mirzoian, A. (2002). Modulation of Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors by Mercury.

Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 302(2), 560-567.
doi:10.1124/jpet.102.035154.

Mitra, P. S., Ghosh, S., Zang, S., Sonneborn, D., Hertz-Picciotto, I., Trnovec, T., Palkicova, L., Sovcikova, E., Ghimbovschi, S., Hoffman, E. P., Dutta, S. K. (2012). Analysis of the toxicogenomic effects of exposure to persistent organic pollutants (POPs) in slovakian girls: Correlations between gene expression and disease risk. *Environment International*. 39(1), 188-199.

Molofsky, A. V., Krencik, R., Ullian, E. M., Tsai, H. H., Deneen, B., Richardson, W. D., Barres, B. A., Rodwitch, D. H. (2012). Astrocytes and disease: A neurodevelopmental perspective. *Genes & Development*. 26(9), 891-907.

Morgan, H. D., Watchus, J. A., Milgram, N. W., Fleming, A. S. (1999). The long lasting effects of electrical stimulation of the medial preoptic area and medial amygdala on maternal behavior in female rats. *Behavioural Brain Research*. 99(1):61-73.

Mori, C., Kakuta, K., Matsuno, Y., Todaka, E., Watanabe, M., Hanazato, M., Kawashiro, Y., Fukata, H. (2013). Polychlorinated biphenyl levels in the blood of japanese individuals ranging from infants to over 80 years of age. *Environmental Science and Pollution Research International*.

- Morse, D. C., Plug, A., Wesseling, W., van den Berg, K. J., & Brouwer, A. (1996). Persistent alterations in regional brain glial fibrillary acidic protein and synaptophysin levels following pre- and postnatal polychlorinated biphenyl exposure. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 139(2), 252-261.
- Moses-Kolko, E. L., Fraser, D., Wisner, K. L., James, J. A., Saul, A. T., Fiez, J. A., Phillips, Ml. (2011). Rapid Habituation of Ventral Striatal Response to Reward Receipt in Post-partum Depression. *Bps*.70(4):395–399.
- Mozaffarian, D., Shi, P., Morris, J. S., Grandjean, P., Siscovick, D. S., Spiegelman, D., Hu, F. B. (2013). Methylmercury exposure and incident diabetes in U.S. men and women in two prospective cohorts. *Diabetes Care*. 36(11), 3578-3584.
- Muckle, G., Laflamme, D., Gagnon, J., Boucher, O., Jacobson, JL., Jacobson, SW. (2011) Alcohol, Smoking, and Drug use among Inuit women of childbearing age during pregnancy and the risk to children. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 35(6):1081–1091.
- Murray, L., Hipwell, A., Hooper, R., Stein, A., Cooper, P. (1996) the cognitive development of 5-year-old children of postnatally depressed mothers. *J Child Psychol Psychiatry*. 37:927–35.
- Myers, G. J., Davidson, P. W., & Strain, J. J. (2007). Nutrient and methyl mercury exposure From consuming fish. *The Journal of Nutrition*. 137(12), 2805-2808.

Myers, G. J., Davidson, P. W., Shamlaye, C. F., Axtell, C., Cernichiari, E, Choisy, Choi, A., Cox, C, Clarkson, T. W. (1997). Effects of prenatal methylmercury exposure from a high fish diet on developmental milestones in the Seychelles Child Development Study. *Neurotoxicology*. 18:819-830.

Tottenham, M. A., Sheridan. (2009). A review of adversity, the amygdala and the hippocampus: A consideration of developmental timing *Front. Hum. Neurosci.* 3, p. 68.

Nabi, D. S. (2016). Toxic effects of mercury. Place of publication not identified: Springer, India, Private.

Nakagami, A., Negishi, T., Kawasaki, K., Imai, N., Nishida, Y., Ihara, T., Koyama, T. (2009). Alterations in male infant behaviors towards its mother by prenatal exposure to bisphenol A in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) during early suckling period. *Psychoneuroendocrinology*. 34(8), 1189–1197.

Nakashiba, T., Young, J. Z., McHugh, T. J., Buhl, D. L., Tonegawa, S. (2008). Transgenic inhibition of synaptic transmission reveals role of CA3 output in hippocampal learning. *Science*. 29 ; 319 (5867).

- Nakashiba, T., Young, J., Z., McHugh, T., J., Buhl, D., L., Tonegawa, S. (2008). Transgenic inhibition of synaptic transmission reveals role of CA3 output in hippocampal learning. *Science*. 319, 1260–1264. 10.1126/science.1151120.
- Nedergaard, M., Ransom, B., Goldman, S. A. (2003). New roles for astrocytes: Redefining the functional architecture of the brain. *Trends in Neurosciences*. 26(10), 523-530.
- Nicholls, D. G. (1993). The glutamatergic nerve terminal. *European Journal of Biochemistry*. 212: 613–631. doi:10.1111/j.1432-1033.1993.tb17700. x.
- Nicola, J., Broadbent, Larry, R., Squire, Robert., E. Clark. (2004). Spatial memory, recognition memory, and the hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 101 (40) 14515-14520; DOI: 10.1073/pnas.0406344101.
- Nielsen, J. B. (1992). Toxicokinetics of mercuric-chloride and methylmercuric chloride in mice. *Toxicol. Environ. Health* 37(1):85-122.
- Ni, M., Li, X., Yin, Z., Sidoryk-Wegrzynowicz, M., Jiang, H., et al. (2011). Comparative study on the response of rat primary astrocytes and microglia to methylmercury toxicity. *Glia* 59: 810– 820.

Nriagu, J. O., (1990). Global Metal Pollution- Poisoning the Biosphere, Environment, Vol. 32, No. 7. The present status of biological effects of toxic metals in the environment: lead, cadmium, and manganese. *Can J Physiol Pharmacol*.

Numan, M., Bress, J. A., Ranker, L. R., Gary, A. J., Denicola, A. L., Bettis, J. K., & Knapp, S. E. (2010). The importance of the basolateral/basomedial amygdala for goal-directed maternal responses in post-partum rats. *Behavioural brain research*. 2, 368–376.

Numan, M., J. S. Rosenblatt and B. R. Komisaruk. (1977). Medial preoptic area and the onset of maternal behavior in the rat. *J. comp. physiol. Psychol.* 91: 146-164.

Numan, M. (1974). Medial preoptic area and maternal behavior in the female rat. *J. comp. physiol. Psychol.* 87: 746-759, 1974. 22.

Numan, M., Fleming, A. S., Lévy, F. (2006). Maternal Behavior. In: Neill JD, editor. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. 3rd ed. London. Elsevier. pp. 1921–1993.

Numan, M., Insel, T., (2003). *The Neurobiology of Parental Behavior*. New York: Springer-Verlag; Numan.. M. (1988) neural basis of maternal behavior in the rat. *Psychoneuroendocrinology*.13 (12):47–62.

- Numan, M. (2014). *Neurobiology of Social Behavior: Toward an Understanding of the Prosocial and Antisocial Brain*. London: Academic Press.
- Oatridge, A., Holdcroft, A., Saeed, N., Hajnal, J. V., Puri, B. K., Fusi, L., Bydder, G. M. (2002). Change in brain size during and after pregnancy: study in healthy women and women with preeclampsia. *AJNR Am J Neuroradiol*; 23: 19–26.
- Oxley, G., & Fleming, A. S. (2000). The effects of medial preoptic area and amygdala lesions on maternal behavior in the juvenile rat. *Developmental Psychobiology*. 37(4), 253-265. doi:10.1002/1098-2302(2000)37:4<253::aid-dev6>3.3.co;2-h.
- Padhi, B. K., Pelletier, G., Williams, A., Berndt-Weis, L., Yauk, C., Bowers, W. J., Chu, I. (2008). Gene expression profiling in rat cerebellum following in utero and lactational exposure to mixtures of methylmercury, polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides. *Toxicology Letters*. 176(2), 93-103.
- Parks, J. M., Johs, A., Podar, M., Bridou, R., Hurt, R. A., Jr, Smith, S. D., Tomanicek, S. J., Qian, Y., Brown, S. D., Brandt, C. C., Palumbo, A. V., Smith, J. C., Wall, J. D., Elias, D. A., Liang, L. (2013). The genetic basis for bacterial mercury methylation. *Science (New York, N.Y.)*. 339(6125), 1332-1335.
- Patel, E., & Reynolds, M. (2013). Methylmercury impairs motor function in early development and induces oxidative stress in cerebellar granule cells. *Toxicology Letters*. 222(3), 265-272.

Pawluski, J. L., Galea, L. A. (2006). Hippocampal morphology is differentially affected by Reproductive experience in the mother.

Pelletier, G., Masson, S., Wade, M. J., Nakai, J., Alwis, R., Mohottalage, S., Vincent, R. (2009). Contribution of methylmercury, polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides to the toxicity of a contaminant mixture based on Canadian Arctic population blood profiles. *Toxicology Letters*. 184(3), 176-185. doi:10.1016/j.toxlet. 2008. 11.004.

Pelletier, G., Masson, S., Wade, M. J., Nakai, J., Alwis, R., Mohottalage, S., Kumarathasan, P., Black, P., Bowers, W. J., Chu, I., Vincent, R., (2009). Contribution of methylmercury, polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides to the toxicity of a contaminant mixture based on canadian arctic population blood profiles. *Toxicology Letters*. 184(3), 176-185.

Pelletier, al. (2005). Consequences of rat perinatal exposure to mixtures of polychlorinated biphenyls or organochlorine pesticides on thyroid hormone system and hippocampus protein profile.

Pereira, M., Morrell, J. I. (2010). The medial preoptic area is necessary for motivated choice Of pup- over cocaine associated environments by early post-partum rats. *Neuroscience*. 167(2), 216–231. <http://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.02. 015>

Pfeffer, M. A., Pfeffer, J. M., Fishbein, M. C., (1979). "Myocardial infarct size and ventricular function in rats," *Circulation Research*. vol. 44, no. 4, pp. 503–512. View at Google Scholar.

Phipps, J.H. (1992). Laparoscopic tubal manipulating forceps for extrusion of early ectopic pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol*. 99(6):522-3.

Pilgrim, W., Schroeder, W., Porcella, D., Santos-Brugoa, C., Montgomery, S., Hamilton, A., et al. (2000). Developing consensus: mercury science and policy in the NAFTA countries. *Sci. Total Environ*. 261:185-93.

Popescu, T., Popa, D., Paré, D. (2009). Coherent gamma oscillations couple the amygdala and striatum during learning. *Nat Neurosci*. 12(6):801–807.

Post-partum Depression Facts. (n.d.). Retrieved August 22, 2017. from <https://www.nimh.nih.gov/health/publications/post-partum-depression-facts/index.shtml>

Pouzaud, F., Ibbou, A., Blanchemanche, S., Grandjean, P., Krempf, M., Philippe, H. J., Verger, P. (2010). Use of advanced cluster analysis to characterize fish consumption patterns and methylmercury dietary exposures from fish and other sea foods among pregnant women. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*.. 20(1), 54-68.

Powell, E. M., Geller, H. M. (1999). Dissection of astrocyte-mediated cues in neuronal guidance and process extension. *Glia* 26:73–83.

Quinlan, R. A., Brenner, M., Goldman, J. E., Messing, A. (2007). GFAP and its role in Alexander disease

R. Insausti, M. T. Herrero, and M. P. Witter, (1997). “Entorhinal cortex of the rat: cytoarchitectonic subdivisions and the origin and distribution of cortical efferents”. *Hippocampus*. vol. 7, no. 2, pp. 146–183.

Radikova, Z., Tajtakova, M., Kocan, A., Trnovec, T., Sebkova, E., Klimes, I., Langer, P. (2008). Possible effects of environmental nitrates and toxic organochlorines on human thyroid in highly polluted areas in Slovakia. *Thyroid: Official Journal of the American Thyroid Association*. 18(3), 353-362.

Ralston, N. V., Raymond, L. J. (2010).. Dietary selenium's protective effects against methylmercury toxicity. *Toxicology*; 278(1):112-23.

Ramón y Cajal S. (1995). *Histology of the Nervous System of Man and Vertebrates*. Transl. from French by Swanson N., Swanson L. W., translators. New York, NY: Oxford University Press.

Ratcliffe, H. E., Swanson, G. M., Fischer, L. J. (1996). Human exposure to mercury - a critical assessment of evidence of adverse health effects. *J Toxicol Environ Health*. 49:221-270.

Raymond, P. Kesner. (2007). Behavioral functions of the CA3 subregion of the hippocampus
Department of Psychology. University of Utah, Salt Lake City, Utah. 84112, USA.

Rice, G., Hammitt, J., K. (2005). Economic valuation of human health benefits of controlling mercury emissions from U.S. coal-fired power plants. Northeast States for Coordinated Air Use Management: Boston, MA.

Rice, G., Mahaffey, K., Lyon, B. (1999). Predicting exposure: US EPA Mercury Report to Congress. In: Mercury in Eastern Canada and the Northeast States. Proceedings of the Conference, 21-23 September 1998, Fredericton, New Brunswick. New Brunswick, Ontario, Canada:Ecological Monitoring and Assessment Network. 32.

Rogan, W. J., Gladen, B. C., McKinney, J. D., Carreras, N., Hardy, P., Thullen, J., et al. (1986a). Neonatal effects of transplacental exposure to PCBs and DDE. *J Pediatr*.109:335–341.

Rosenblatt, J.S. et al. (1996). Somatosensation and maternal care in Norway rats, *Advances in the study of behavior*. vol. 25. Academic Press.

Rossi, N. (ed) (1997). *L'istruzione in Italia : Solo un Prezzo di Carta?* Bologna: Il Mulino.

Saltzman, W., Ziegler, TE. (2014). Functional Significance of Hormonal Changes in Mammalian Fathers. *Journal of Neuroendocrinology*. 26(10):685–696.

Schmitt, U., Tanimoto, N., Seeliger, M., Schaeffel, F., & Leube, R. E. (2009). Detection of behavioral alterations and learning deficits in mice lacking synaptophysin. *Neuroscience*, 162(2), 234-243.

Schreurs, M. P., Houston, E. M., May, V., Cipolla, M. J. (2012). The adaptation of the blood-brain barrier to vascular endothelial growth factor and placental growth factor during pregnancy. *FASEB J*. 26(1):355-62.

Scott, J. E., Willett, I. H. (1966). Binding of cationic dyes to nucleic acids and their biological polyanions. *Nature*. 1966;209:985–7.

Seelbach, M., Chen, L., Powell, A., Choi, Y. J., Zhang, B., Hennig, B., & Toborek, M. (2010). Polychlorinated Biphenyls Disrupt Blood–Brain Barrier Integrity and Promote Brain Metastasis Formation. *Environmental Health Perspectives*. 118(4), 479–484.
<http://doi.org/10.1289/ehp.0901334>

Seifert, G., Schilling, K., Steinhäuser, C. (2006). Astrocyte dysfunction in neurological disorders: a molecular perspective. *Nat. Rev. Neurosci.* 7, 194–206.

Selvakumar, K., Bavithra, S., Ganesh, L., Krishnamoorthy, G., Venkataraman, P., & Arunakaran, J. (2013). Polychlorinated biphenyls induced oxidative stress mediated neurodegeneration in hippocampus and behavioral changes of adult rats: Anxiolytic-like effects of quercetin. *Toxicology Letters.* 222(1), 45-54. doi:10.1016/j.toxlet.2013. 06.237

Sexton, K., Salinas, J. J., McDonald, T. J., Gowen, R. M., Miller, R. P., McCormick, J. B., Fisher-Hoch, S. P. (2013). Biomarkers of maternal and fetal exposure to organochlorine pesticides measured in pregnant hispanic women from brownsville, texas. *International Journal of Environmental Research and Public Health.* 10(1), 237-248.

Slooff, W., P. F. H. Bont, M. van Ewijk, and J. A. Janus. (1991). Exploratory report mercury. National Institute of Public Health and Environmental Protection. 710401006. Bilthoven, The Netherlands.

Snell, T. W., Moffat, B. D., Janssen, C., Persoone. (1991). Acute toxicity tests using rotifers Effects of temperature, strain and exposure time on the sensitivity of *Brachionus plicatilis*. *Environ. Toxicol. Water Qual. An Inter. J.* 6:63-75.

Société canadienne de pédiatrie., (2004). La dépression de la mère et le développement de l'enfant. (2004). *Paediatrics & ChildHealth*. 9(8), 589–598.

Sofroniew. MV., (2009). Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation. *Trends Neurosci*. 32:638–647.

Stern AH. (1993). Re-evaluation of the reference dose for methylmercury and assessment of current exposure levels. *Risk Anal*. 13:355-364.

Strimbu, K., & Tavel, J. A. (2010). What are Biomarkers? *Current Opinion in HIV and AIDS*. 5(6), 463–466. <http://doi.org/10.1097/COH.0b013e32833ed177>.

Sullivan, et al. (2013). Cresyl Violet Staining (Nissl Staining) – QBI Histology ... (n.d.). Retrieved November 15, 2016. from <http://web.qbi.uq.edu.au/microscopy/cresyl-violet-staining-nissl-staining/>

Sundberg, J. (1999). Protein binding of mercury in milk and plasma from mice and man — a comparison between methylmercury and inorganic mercury. *Toxicology*. 137(3), 169-184. Doi: 10.1016/s0300-483x (99)00076-1.

Supèr, H., Soriano, E., (1994). the organization of the embryonic and early postnatal murine hippocampus. II. Development of entorhinal, commissural, and septal connections studied with the lipophilic tracer DiI. *J Comp Neurol*.

Suzuki, T., Miyama, T., Katsunuma, H., (1967a). *Ind. Health* 5, 290-0292.

Suzuki, S., Tanaka, K., Suzuki, N. (2009). ambivalent aspects of interleukin-6 in cerebral ischemia: inflammatory versus neurotrophic aspects. *J Cereb Blood Flow Metab.* 29: 464–479.

Teyler, T., J., Rudy, W., R. (2007). The hippocampal indexing theory and episodic memory: Updating the index. *Hippocampus.* 17, 1158–1169. 10.1002/hipo. 20350

Toborek, M., Barger, S. W., Mattson, M. P., Espandiari, P., Robertson, L. W., & Hennig, B. (1995). Exposure to polychlorinated biphenyls causes endothelial cell dysfunction. *Journal of Biochemical Toxicology.* 10(4), 219-226.

Tofighi, R., Johansson, C., Goldoni, M., Ibrahim, W., Gogvadze, V., Mutti, A., & Ceccatelli, S. (2011). Hippocampal neurons exposed to the environmental contaminants methylmercury and polychlorinated biphenyls undergo cell death via parallel activation of calpains and lysosomal proteases. *Neurotoxicity Research.* 19(1), 183-194. doi:10.1007/s12640-010-9159-1

Tofighi, R., Johansson, C., Goldoni, M., Ibrahim, W. N., Gogvadze, V., Mutti, A., & Ceccatelli, S. (2010). Hippocampal Neurons Exposed to the Environmental Contaminants Methylmercury and Polychlorinated Biphenyls Undergo Cell Death via Parallel Activation of

Calpains and Lysosomal Proteases. *Neurotoxicity Research*. 19(1), 183-194.
Doi:10.1007/s12640-010-9159-1

Trainer, R., Quadros, P., Stafisso-Sandoz, G., & Kinsley, C. (1997). Differences in concentrations of dendritic spines on hippocampal neurons among virgin, pregnant and lactating rats. Poster session presented at the international Society for Developmental Psychobiology annual meeting. New Orleans, LA. October.

Tsubaki, T. K., Irukayama, K. (1977). Methylmercury poisoning in Minamata and Niigata, Japan. In Tsubaki T, Irukayama K, editors. *Minamata disease*. Amsterdam: Elsevier. p. 143-253.

Van, Oostdam., J., Gilman, A., Dewailly, E., Usher, P., Wheatley, B., Kuhnlein, H., Loring , E., Muckle, G., Myles, E., Receveur, O., Tracy, B., Gill, U., & Kalhok, S. (1999). Human health implications of environmental contaminants in arctic canada: A review. *The Science of the Total Environment*. 230(1-3), 1-82.

Vizcaino, E., Grimalt, J.O., Lopez-Espinosa, M.J., Llop, S., Rebagliato, M., Ballester, F. (2011). Polybromodiphenyl ethers in mothers and their newborns from a non-occupationally exposed population (Valencia, Spain). *Environ. Int.* 37:152-157

Volterra, A., Meldolesi, J. (2005). Astrocytes, from brain glue to communication elements: the revolution continues. *Nat. Rev. Neurosci.* 6, 626–640 10.1038/nrn1722

Von, Muhlendahl., KE. (2004). [cited 2010 12th of May]. Pediatric guideline mercury. Available at: http://www.gpaev.de/typo/fileadmin/user_upload/GPA/dateien_indiziert/Leitlinien/umw_Leitlinie_Quecksilber.pdf.

Wagner, B., Natarajan, A., Grunau, S., Kroismayr, R., Wagner, EF., Sibia, M. (2006). Neuronal survival depends on EGFR signaling in cortical but not midbrain astrocytes.

Weston, H. I., Sobolewski, M., Allen, J. L., Weston, D., Conrad, K., Pelkowski, S., Cory-Slechta, D. A. (2014). Sex-Dependent and Non-Monotonic Enhancement and Unmasking of Methylmercury Neurotoxicity by Prenatal Stress. *Neurotoxicology*. 41, 123–140. <http://doi.org/10.1016/j.neuro.2014.01.009>

What should I understand about chemicals and toxicity while using TOXMAP? - TOXMAP FAQ. (n.d.). Retrieved February 16, 2017. from <https://toxmap.nlm.nih.gov/toxmap/faq/2009/08/what-should-i-understand-about-chemicals-and-toxicity-while-using-toxmap.html>

Wheatley, B., Wheatley, M. (2000) Methylmercury and the health of indigenous peoples: a risk management challenge for physical and social science and for public health policy. *Sci Total Envir*, 259:23-9.

WHO International Programme on Chemical Safety Biomarkers and Risk Assessment: Concepts and Principles.(1993). Retrieved from <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc155.htm>.

Wilkin, G. P., Marriott, D. R., Cholewinski, A. J. (1990). Astrocyte heterogeneity. *Trends Neurosis*. 13:43–46.

Will, R., Hull, E., Dominguez, J. (2014). Influences of dopamine and glutamate in the medial preoptic area on male sexual behavior. *Pharmacol Biochem Behav*. 121:115–123.

Will, R., Martz, J., Dominguez, J. (2016). The medial preoptic area modulates cocaine-induced locomotion in male rats. *Behav Brain Res*. 305:218–222. 10.1016/j.bbr.2016.03.002.

Witter, M.P., Groenewegen, H., Lopes da Silva, F., Lohman, A. (1989). “Functional organization of the extrinsic and intrinsic circuitry of the parahippocampal region”. *Progress in Neurobiology*. vol. 33, no. 3, pp. 161–253.

Workman, J. L., Barha, C. K., Galea, L. A. (2012). Endocrine substrates of cognitive and affective changes during pregnancy and post-partum. *Behav Neurosci*. 126: 54–72.

World Health Organization. (1990). Methyl mercury. *Environ Health Crit.*101:144

Xavier, G. F. (2009). "Dentate gyrus and spatial behaviour". *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry.* 33 (5): 762–773.

Yusuke, N. Youichi, Shinozaki. Kayoko, Fujishita. Keisuke, Shibata. Yoshio, Imura. Yosuke; Morizawa, Astrocytes Protect Neurons against Methylmercury via ATP/P2Y1 Receptor-Mediated Pathways in Astrocytes. (n.d.). Retrieved December 13, 2016. from <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0057898>

Zilmer, E., Spiers, M., Culbertson, W. (2008). *Principles of Neuropsychology.* Retrieved from <https://books.google.ca/books?id=s-8j7b7cF>