



Etude préliminaire de la présence du Glyphosate chez l'homme dans le plasma sanguin, le plasma séminal au sein d'une population Infertile

Dr Claudine Vasseur[°] et Dr Joelle Dupont^{°°}

[°]Centre PMA, Pôle santé Léonard de Vinci 37170 Chambray-lès-Tours

^{°°} Equipe Sensor , INRAE, Nouzilly



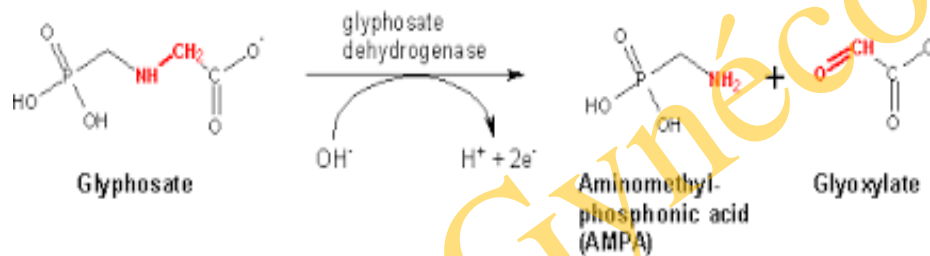
Le Glyphosate (1)

- **France: 3ème consommateur de produits phytosanitaires dans le monde**
- **Glyphosate: Produit phytosanitaire le plus vendu dans le monde
(épannage x 15 entre 1996 et 2016)**
- **Glyphosate Mis sur le marché en 1974,**
- **Renouvellement autorisation UE: en Novembre 2022 ????**

Le Glyphosate

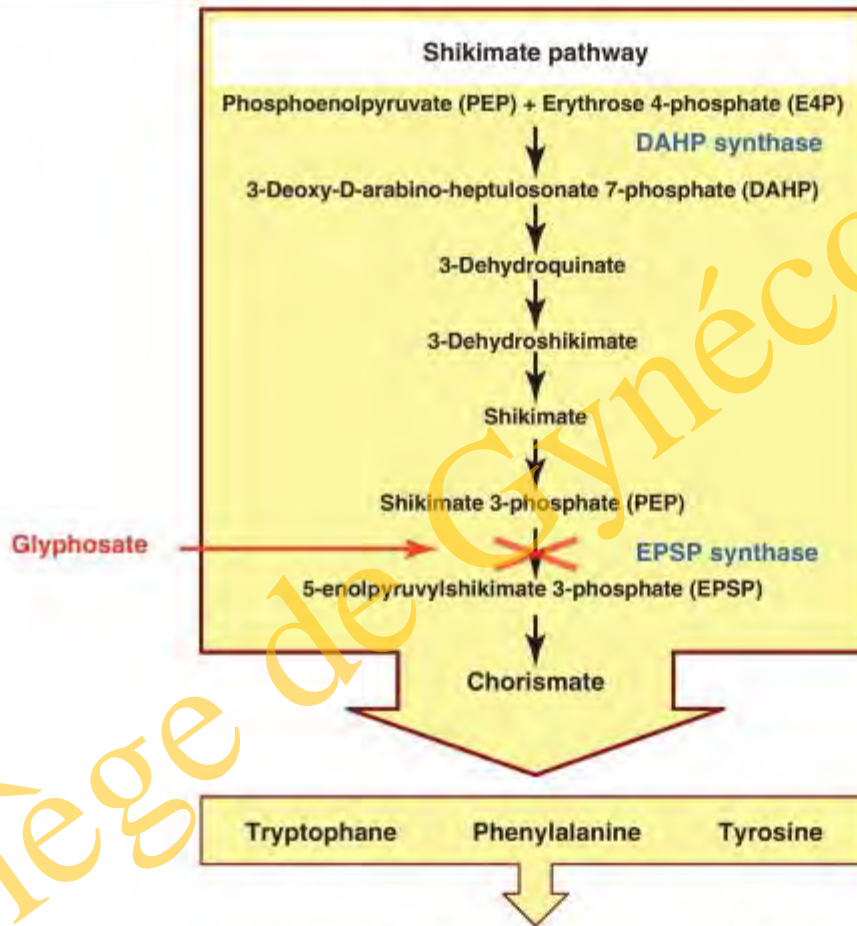
- Métabolisme -(2)

N-(phosphonomethyl)glycine



- Absorption: cutanée+++ et par voie orale(aliments et eau)
- Peu métabolisé (<1%)
- ½ vie courte (estimée à 5-10h)
- Excrété dans urines sous forme inchangée
- Stockage faible dans rein et muscle

Le Glyphosate Mode d'action (3)



Phytoalexin, lignin, indoleacetic acid (IAA), etc.

Related plant and microbe responses: survival, growth, defense and secondary metabolite composition

Le Glyphosate (4)

-Diversité des Formulations ou HBG-



- **Gly Modérément soluble dans l'eau**
→ disponible sous forme de sel

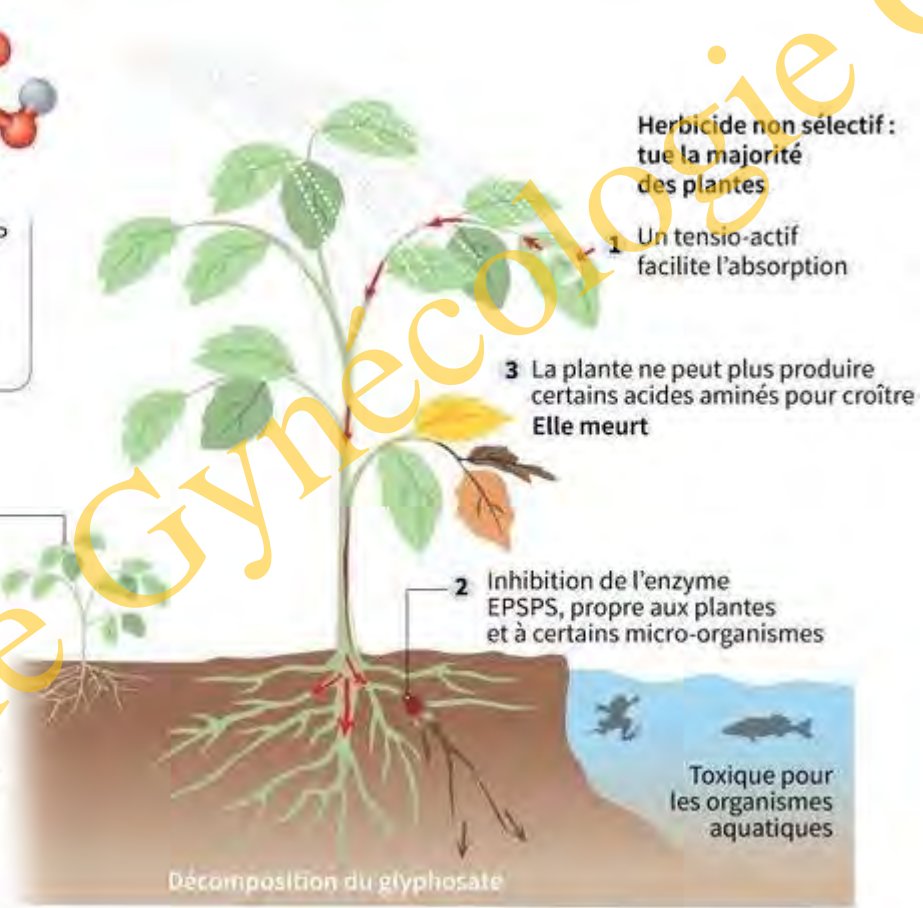
- **Adjonction de surfactants (80 %)**
→ tensioactifs, qui permettent dispersion et meilleure absorption du glyphosate
 - POEA: amines de suif polyethoxylées (interdits en France 2016, utilisés au Canada)
 - Amines de nouvelles générations
 - Bioactivateurs (colza) très hydrophiles pour passage à travers la cuticule du Gly
 - Métaux lourds....
 - ????
 - 690 Formules, 32 encore autorisées en France en 2020
 - RU Interdit aux particuliers en France en janvier 2019
(Brevet , domaine publique 2000)

Le Glyphosate (4)

-Les Formulations-



Structure chimique : $C_3H_8NO_3P$
Principe actif du Roundup
de Monsanto
*Produit par d'autres sociétés
depuis 2000 (brevet public)*



Herbicide non sélectif :
tue la majorité
des plantes

1 Un tensio-actif
facilite l'absorption

3 La plante ne peut plus produire
certains acides aminés pour croître
Elle meurt

Certaines plantes
sont devenues
résistantes

2 Inhibition de l'enzyme
EPSPS, propre aux plantes
et à certains micro-organismes

● Des semences
(maïs, soja) ont été
génétiquement modifiées
pour tolérer le glyphosate

Toxique pour
les organismes
aquatiques

Décomposition du glyphosate

Sources : Monsanto, CIRC, EFSA,

Collège de Gynécologie CVL



Herbicides à base de Glyphosate (5) - Région Centre -



Région centre:

- 40 000 Km² de superficie dont 62 % dédiés aux surfaces agricoles
- 800 tonnes de produits phytosanitaires achetés en 2017
- Loiret: médaille de bronze sur la palmarès des départements français...

Cher: 32/110 unités de distribution d'eau ont des taux non conformes de pesticides...

ARS 2017

Collège de

Agroécologie

Glyphosate et Fertilité Male ???



-Altération de la stéroïdogénèse (production testostérone)

Zhao et al., 2021

-Altération intégrité de la barrière hémato-testiculaire

- *(Gorga et al., 2021),*

-- Inhibition de la voie Shikimate des germes présents dans le microbiote

Mesnager et al, Environmental Health perspectives 2021

- Modifications Epigénétiques transgénérationnelles des Spz (génération F3)

->**Toxicologie transgénérationnelle** (obésité, patho prostate, rénale, puberté...)

Ben Maamar et al., 2021

Glyphosate et Fertilité ???



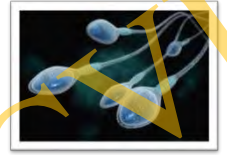
- Exposition alimentaire au RU ; dose < à 2x la NOAEL (No Observational Adverse Effect Level)
 - diminue la mobilité Spz
 - Et induit une hypométhylation de l'ADN des Spz.

- IIU Poules non exposées au RU+ Spz Coqs exposés au RU
 - > Augmentation de la masse grasse des Poussins.

Serra et al., 2021



Glyphosate et Fertilité ???



- ✓ GLY seul ($> 360 \mu\text{g/ml}$) et Round up ($> 5 \mu\text{g/mL}$) diminuent :
- La mobilité des Spz
 - l'activité mitochondriale des Spz
 - Et l'intégrité de l'acrosome

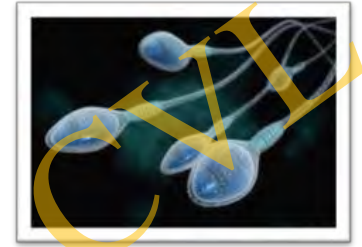
→ Toxicité RU $>$ Glyphosate seul

Neruzzi et al., 2020

Collège de Gynécologie



Glyphosate et Fertilité Masculine ??



IN VITRO

- Glyphosate réduit la mobilité progressive des spermatozides

Anifandis et al. 2018

- Round up (RU) diminue :
 - l'activité mitochondriale des Spz
 - Et l'intégrité de l'acrosome

Nerozzi et al., 2020

Collège de Gynécologie

- Le Glyphosate -

Etudes d'Exposition au GLY chez l'Homme



- ✓ Peu nombreuses (2020: 4299 individus ds le monde)
- ✓ Etudes Populations exposées professionnel >>> études pop Générale
- ✓ Etude longitudinale (Californie)
n=100, [GLY] urinaire +
 - 12% (1993-1996)
 - 70 % (2014-2016)
- ✓ Adultes /enfants (6)
- ✓ [GLY]enfants >> [GLY] adulte....

GLY +/- AMPA

- Urines ++
- Plasma sanguin maternel
- Lait maternel
- Cordon ombilical

Le Glyphosate (6)

- Etudes Fertilité dans l'espèce Humaine-

Et dans la population Infertile????

Rechercher la présence de Glyphosate et de son métabolite , l'AMPA ,

au sein d'une POPULATION INFERTILE dans:

- 
- le **liquide Séminal**
 - le **liquide Folliculaire**



Etude Fertiprotect

- **PSLV (Dr C Vasseur) / Dr Joelle Dupont, Equipe Sensor, INRAE Nouzilly**
 - **Etude Prospective, depuis 2020**
 - **Financée par la Région Centre**
 - **Couples infertiles, originaires région Centre, pris en charge en FIV au PSLV,**
 - **Signature d'un Consentement éclairé**
 - **Examen clinique: Poids, taille et IMC**
 - **Questionnaire (Mode de vie / environnement vie fœtale → actuelle)**
 - **Prélèvements: plasmatique, spermatique et folliculaire**

Protocole: FERTIPROTEC



- Collection {
- plasma sanguin
 - liquide séminal



Dosage Glyphosate et AMPA

- par LC MS/MS (Dr El Balkhi Souleiman)
- Seuil de détection: 0,1 à 10 µg/L

Protocole: FERTIPROTEC



N= 60 patients dont 21 en surpoids ou obèses

- **IMC: $24,5 \pm 1,1$ Kg/m²**
- **Âge: $34,8 \pm 1,8$ ans**

✓ **2/3 des patients (41/60) ont un taux significatif de GLY ds le Plasma sanguin**

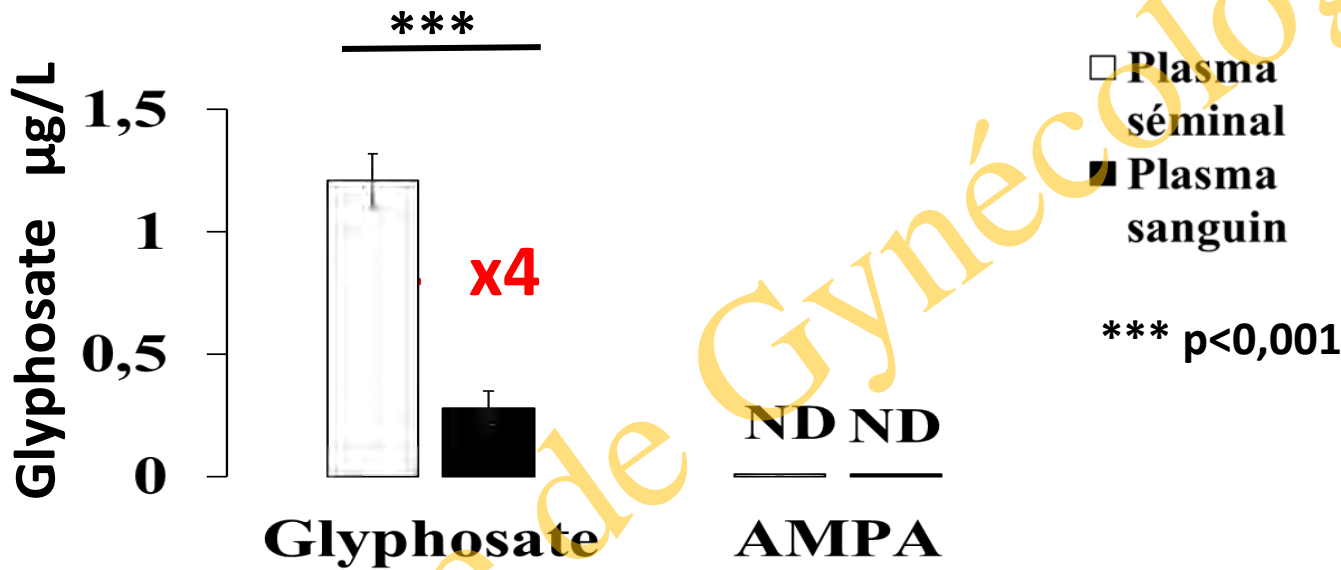
- min -> $0,1 \mu\text{g/l}$

- max -> $1,34 \mu\text{g/l}$ avec moy: $0,29 \mu\text{g/l}$



Concentration Glyphosate et AMPA dans le plasma sanguin / liquide seminal

n= 41 patients sur 60



- ✓ X4 [GLY] dans liquide Séminal / [GLY] dans le plasma sanguin
 - min -> 0,1 $\mu\text{g/l}$
 - max -> 4,35 $\mu\text{g/l}$ avec moy: 1,22 $\mu\text{g/l}$



[GLY] x4 Liquide Séminal/plasma?

✓ Altération de la Barrière Hémato testiculaire

Rôle BHT: Isoler cellules germinatives post meiotiques/ limiter entrées et contact avec substances nocives

- In vitro: Culture cellules Sertoli rat + GLY ou Round up
-> Altération BHT

Gorga A, Toxicol In Vitro 2020

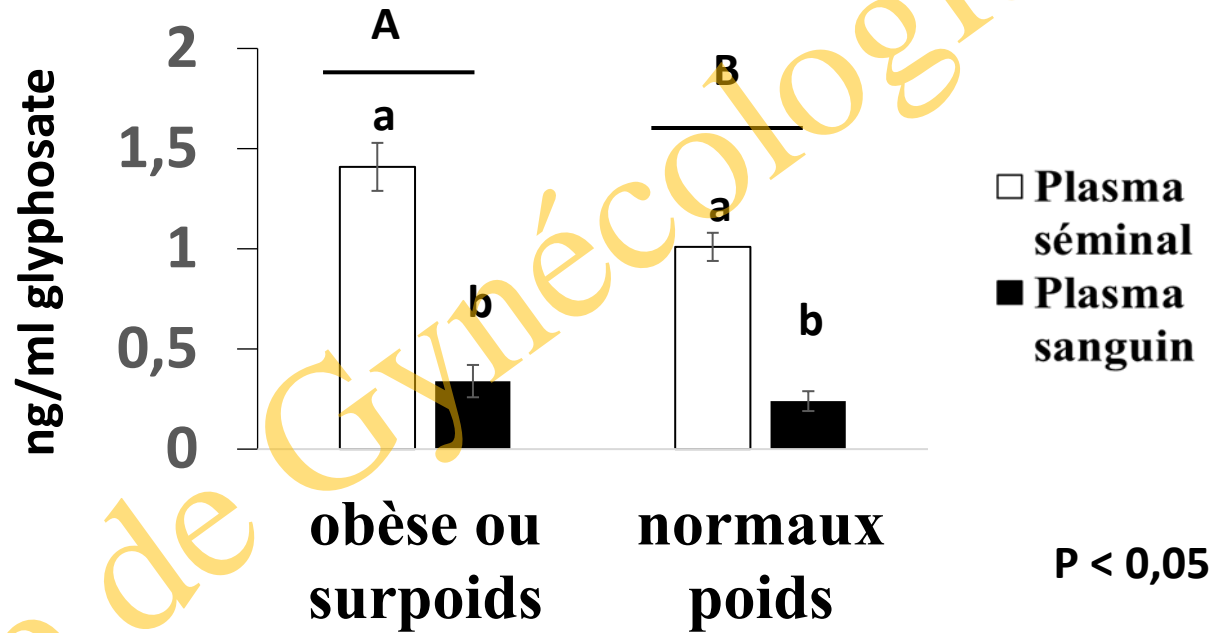
- IN Vivo; Rats juvéniles aliments + faibles doses de GLY ou R:
 - ↑ Perméabilité Epithélium TS
 - délocalisation des P jonctions serrées (claudin 1)

Gorga A , frontiers in Endocrinology2021



[Glyphosate] et [AMPA] et IMC dans le plasma sanguin/liquide séminal

Lettres minuscules: effet plasma sang vs séminal
Lettres majuscules: effet état métabolique



(N +=41)

n= 18 sur 21

n= 23 sur 39

P < 0,05

✓ ↗ [GLY] dans liquide Séminal et le plasma en fonction de l'IMC

Augmentation [GLY] chez les patients en Surpoids?

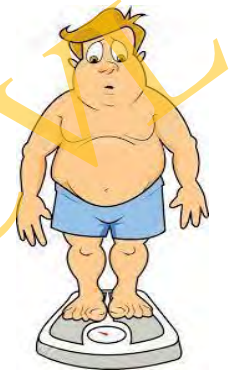


☐ Stockage?

- Glyphosate peu stocké et métabolisé
- Lipidomique: Pas de différence de répartition des lipides liq séminal entre les 2 groupes

Collège de Gynécologie

Stress Oxydatif / Surpoids - Fertilité



□ Stress Oxydatif et Obésité

Stress oxydatif : rôle important dans l'obésité et ses complications métaboliques

Perez-Torres, Int J Mol.Sci 2020

□ Stress Oxydatif et infertilité Masculine

Rôle critique du Stress Oxydatif dans :

- la fécondabilité du spermatozoïde
- l'intégrité de l'ADN spermatique → Hérédité épigénétique transgénérationnelle



Aitken R, Antioxydant 2022

Ben Mamar M, epigenetics 2021

Stress oxydatif et Fertilité masculine



Espèces Réactives de l'Oxygène

(ROS ou Radicaux libres)

O₂⁻, H₂O₂, OH⁻, NO

Anti oxydants (exo/endogènes)

-VitC, α tocophérol, Zn,urée

Coenzyme Q10 , caretinoides...

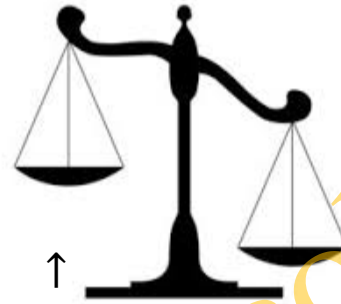
-SOD, GPX, catalase

Fonctions physiologiques des ROS

- Produits lors formation ATP dans mitochondries du SPZ
-> **Participe capacitation et réaction acrosomique**
- Produits par les Leucocytes
-> **phagocytose**
- Facilitent la formation ponts disulfures
-> **Stabilité chromatine et prévient altération ADN chromosomique**

Stress oxydatif

↗ Espèce Réactives de l'Oxygène
(ROS-Radicaux libres)



Anti oxydants

VitC, αtocophérol
Coenzyme Q10, caratinoïdes, Zn...
-SOD, GPX, catalase

- Peroxydation des structures lipidiques
- Altération des protéines et glucides
- Altération ADN (génomotoxique, mutagénique)



Infertilité Masculine
Hérédité transgénérationnelle?

*Perez-Torres I, Int J Mol Sci 2021
Dutta S, Int J Mol Sci 2021*

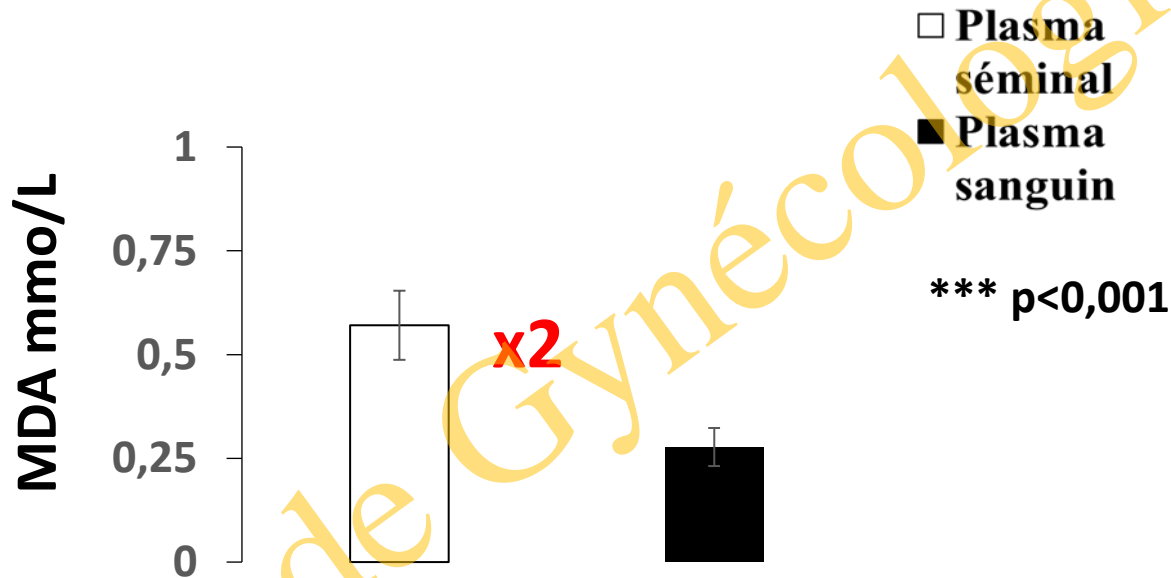
Marqueur Biologique du Stress oxydatif

Mesure de: Malondialdéhyde (MDA)

- Mesure de la peroxydation des lipides
- Est générée à la fin du processus d'oxydation
- Par la Méthode de TBARS (Substances réactives Acides Thiobarbituriques)

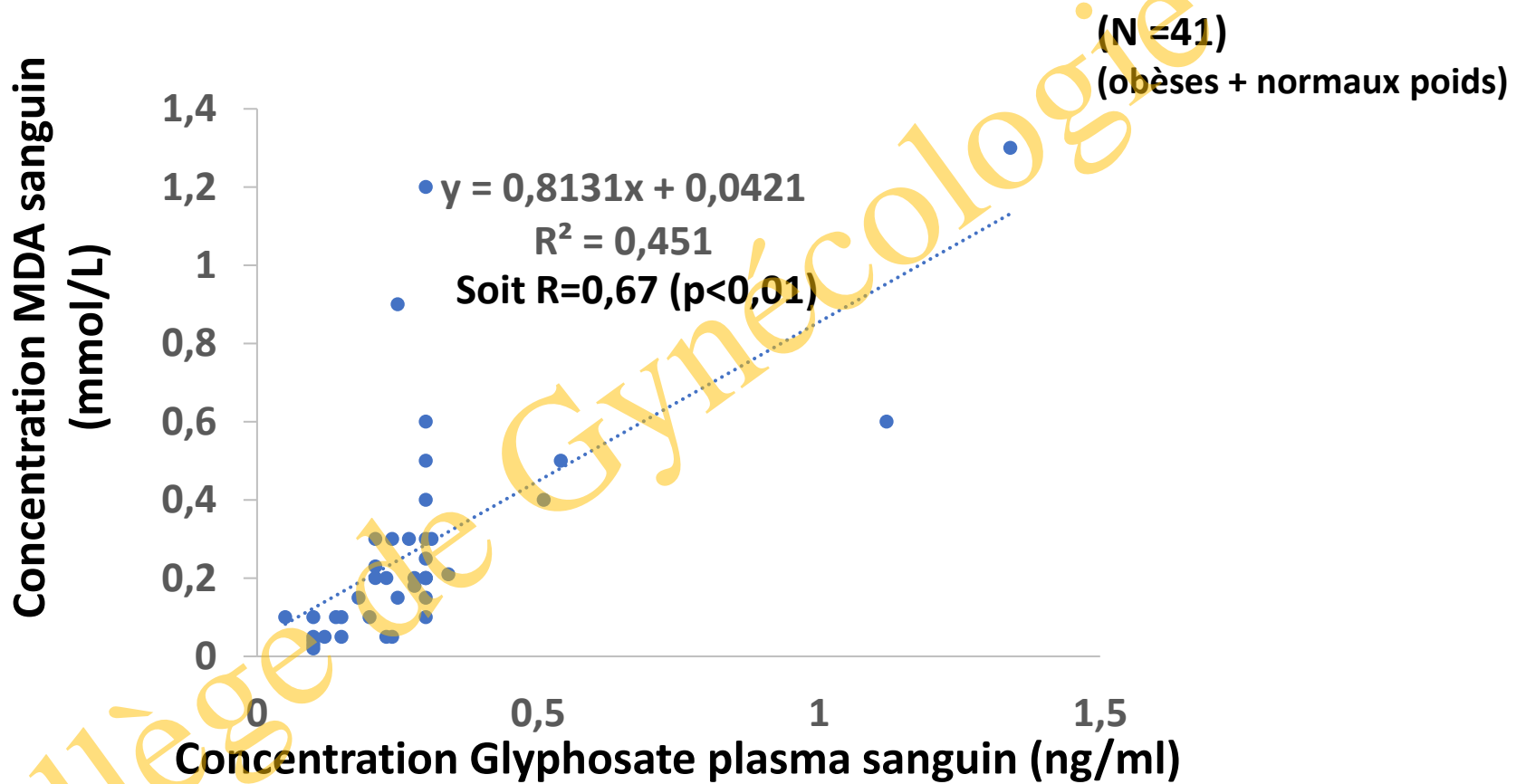
[GLY] et marqueurs de Stress Oxydatif (1)

n= 41 patients



- ✓ **X2 [MDA] dans liquide Séminal / le plasma sanguin**
 - min -> 0,1 mmol/L
 - max -> 2,4 mmol/L avec moy: 0,57 µg/l

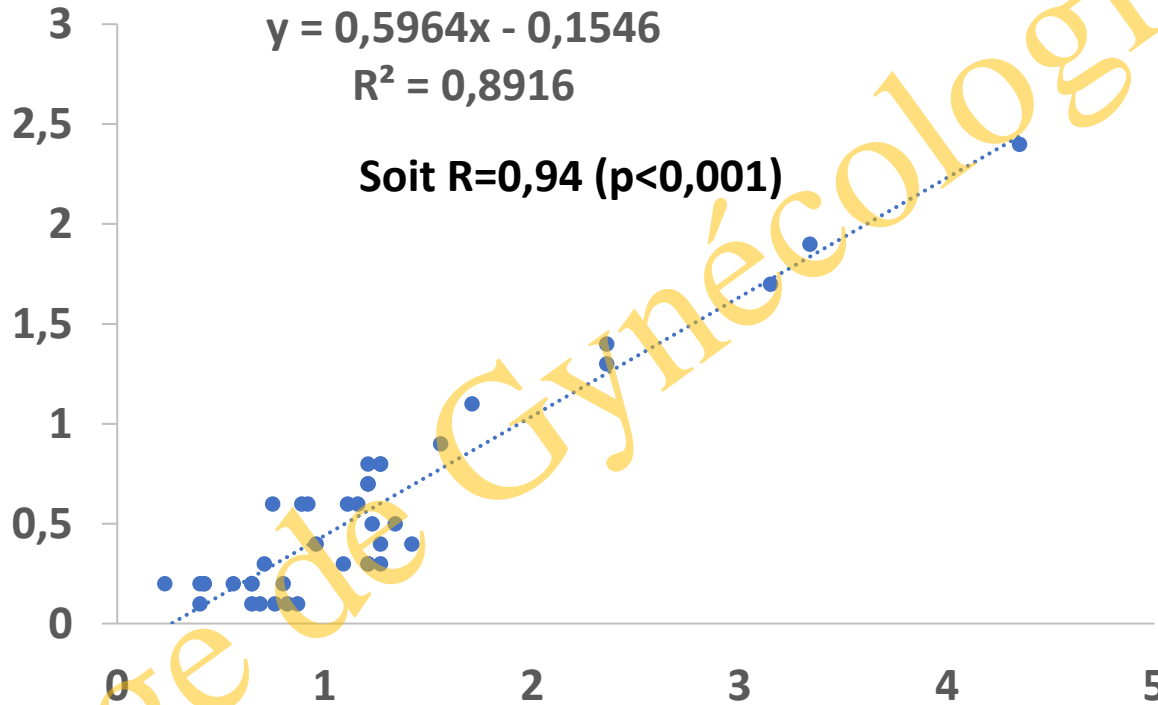
[GLY] et marqueurs de Stress Oxydatif (2)



[GLY] et marqueurs de Stress Oxydatif (3)

(N =41)
(obèse + normaux poids)

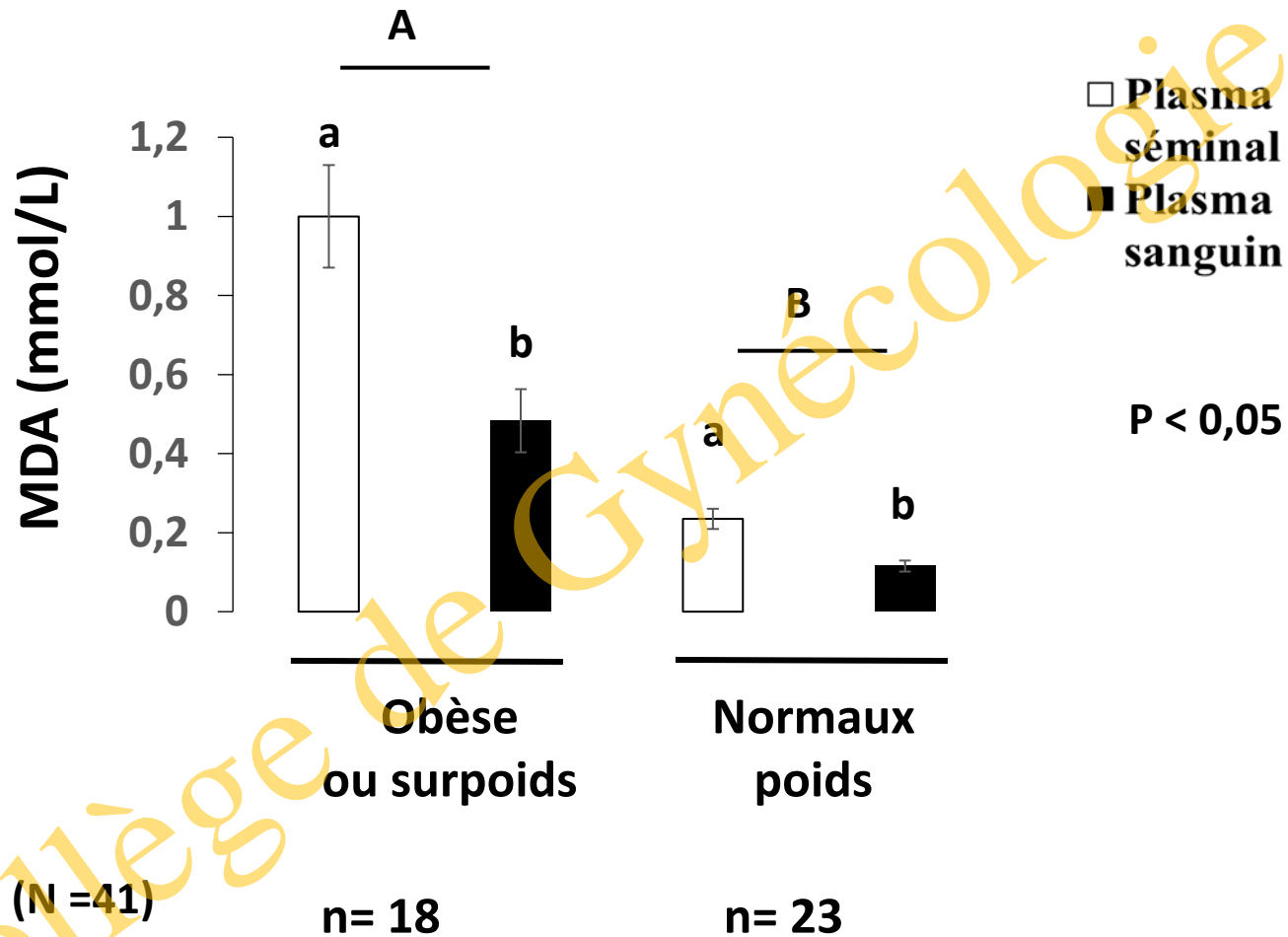
Concentration MDA sperme
(mmol/L)



Concentration Glyphosate spermatique (ng/ml)

Forte Corrélation [GLY] et taux MDA stress oxydatif dans le sperme
($>R_{sanguin}$)

[GLY] et marqueurs de Stress Oxydatif (4)



✓ ↗ [MDA] dans liquide Séminal et le plasma en fonction de l'IMC

Conclusions (1)

- **1^{ère} fois** , isoler présence de Gly dans chez l'humain/pop infertile
- **2/3** des patients pris en charge en FIV région Centre ont un tx significatif de [GLY] dans le sang
- **4 x plus de [Gly]** dans le liquide séminal/ plasma
→ Pourrait être lié à une altération de la BHT
- **Variation [GLY] sang + sperme en fonction de l'IMC**
 - non lié au stockage
 - est corrélée à une augmentation du Stress Oxydatif
- **Corrélation forte entre les marqueurs de Stress oxydatif et [GLY] sg et sperme**
Mécanismes physiopathologiques restent à démontrer

Conclusions (2)

- Résultats préliminaires chez l'homme
- Cadre plus vaste (chez la Femme)
- **INFORMER** nos patients sur la Reprotoxicité probable du Gly et HBG chez l'homme
- **SENSIBILISER** nos patients à limiter leur exposition aux produits phytosanitaires
-> Intérêt d'élaborer des questionnaires de sensibilisation

Remerciements



Glyphosate et Fertilité ???



-Altération de la stéroïdogénèse (production testostérone)

Zhao et al., 2021

- Altération intégrité de la barrière hémato-testiculaire (*Gorga et al., 2021*),

- Modifications Epigénétiques transgénérationnelles des Spz (génération F3)

->**Toxicologie transgénérationnelle** (obésité, patho prostate, rénale, puberté...)

Ben Maamar et al., 2021

- Exposition alimentaire au RU ; dose < à 2x la NOAEL (No Observational Adverse Effect Level)



- diminue la mobilité Spz

- Et induit une hypométhylation de l'ADN des Spz.

- IIU Poules non exposées au RU+ Spz Coqs exposés au RU

-> Augmentation de la masse grasse des Poussins.

Serra et al., 2021