



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

Institut National Polytechnique de Lorraine

Unité de recherche Animal et Fonctionnalités des Produits Animaux

Micropolluants et Résidus dans la Chaîne alimentaire

Ecole Doctorale

Sciences et Ingénierie des Ressources, Procédés, Produits et Environnement

THESE

présentée en vue de l'obtention du grade de

Docteur de l'Institut National Polytechnique de Lorraine

Spécialité : **Sciences Agronomiques**

par **Stéphanie DAUBIÉ-ALBANESE**

**Toxicité neurocomportementale à court et à long-terme du BDE-99
chez le rat adulte ou en développement.**

**Etude des effets de l'administration quotidienne par voie orale de doses
représentatives de l'exposition humaine pendant 90 jours.**

Soutenue publiquement le 29 juin 2011

Membres du jury :

G. RYCHEN, Professeur, Directeur de l'UR AFPA, ENSAIA-INPL

H. SCHROEDER, Maître de conférence, U.H.P., Nancy I

J.F. BISSON, Responsable du pôle Cancérologie et Pathologies Humaines, ETAP

D. ZALKO, Chargé de recherche INRA, Toulouse

F. TSCHUDI-MONNET, Maître de recherche et d'enseignement, Université de Lausanne

Directeur de thèse

Co-Directeur de thèse

Tuteur entreprise

Rapporteur

Rapporteur

Remerciements

Mes premiers remerciements vont au Professeur Guido RYCHEN, mon Directeur de thèse, pour m'avoir accueillie au sein de l'UR AFPA, pour son encadrement, sa disponibilité, son écoute et ses encouragements.

Un grand merci au Docteur Henri SCHROEDER, mon co-directeur de thèse pour ses conseils scientifiques et pour sa disponibilité lors de la mise en forme de ce document.

Je tiens également à remercier le Docteur Michaël MESSAOUDI, Directeur scientifique du laboratoire ETAP pour m'avoir accueillie au sein du laboratoire, pour m'avoir encouragée à réaliser cette thèse et pour son aide dans l'analyse statistique des résultats.

Je remercie le Docteur Jean-François BISSON, mon tuteur entreprise pour sa disponibilité, son écoute et ses conseils scientifiques.

Mes remerciements vont également au Professeur Didier DESOR, au Professeur Cyril FEIDT et au Docteur Pascale ROZAN, membres de mon comité de pilotage, pour leur accompagnement et leurs conseils.

Ce travail n'aurait pas été possible sans le soutien financier de l'Association Nationale de la Recherche et de la Technologie.

Des remerciements sont adressés aux membres du jury de thèse, le Docteur Daniel ZALKO et le Docteur Florianne TSCHUDI-MONNET qui m'ont fait l'honneur de lire et de juger ce travail et pour le temps qu'ils y ont consacré.

Je remercie également les Docteurs Nicolas VIOLLE et Christophe MULLER du laboratoire ETAP pour leur soutien, leurs conseils et leur sympathie.

Je tiens aussi à remercier le Professeur Robert LALONDE pour ses conseils scientifiques.

Un grand merci également à Sophie HIDALGO, Valérie DEMADE et Mélissa FRIEDRICH, assistantes de recherche au sein du laboratoire ETAP, pour leur aide dans la réalisation de certaines expériences mais aussi pour leur bonne humeur.

Je remercie ma famille, et plus particulièrement mes parents et mes beaux-parents qui m'ont soutenue et encouragée tout au long de ces années.

Enfin, je remercie Jonathan, mon mari, qui m'a supportée, dans les deux sens du terme, chaque jour durant ces années de thèse.

Résumé

Les PBDEs appartiennent à la famille des retardateurs de flamme bromés, substances massivement utilisés ces dernières décennies. Ces molécules sont aujourd'hui retrouvées de façon ubiquitaire dans l'environnement extérieur et intérieur. L'Homme est exposé à ces polluants par le biais de l'alimentation et de l'ingestion/inhalation de poussières ménagères ou industrielles contaminées. Leurs propriétés lipophiles et leur persistance sont à l'origine de leur bioaccumulation dans les matrices abiotiques et biologiques (lait, sérum...). Les travaux de recherche de cette thèse ont eu pour objectif d'évaluer l'impact d'une exposition à un polluant environnemental toxique et très répandu, le BDE-99, administré dans des conditions reflétant l'exposition humaine. Ainsi, les effets d'une administration de longue durée à des doses réalistes de BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j) ont été évalués au plan neurocomportemental et physiologique chez le rat mâle de souche Sprague-Dawley. Aucune altération de l'activité, de l'anxiété et des fonctions cognitives n'a été mise en évidence que les animaux aient été traités à l'âge adulte, à partir du sevrage ou à partir du 8^{ème} jour de vie postnatale. Les seules variations comportementales significatives observées ont été des troubles transitoires de la coordination locomotrice ainsi qu'un retard d'une journée de l'ouverture des yeux chez les animaux traités avec le BDE-99 depuis l'âge de 8 jours. Au plan physiologique, aucune variation significative de l'évolution pondérale, des prises hydrique et alimentaire ainsi que du poids de plusieurs organes (foie, cerveau, reins, rate et thymus) n'a été observée quelle que soit la dose de BDE-99 administrée et la période d'exposition considérée. Ces résultats montrent donc que ce polluant administré chez le rat à des doses réalistes, reflétant celles auxquelles l'Homme est réellement exposé, n'est pas à même d'induire une toxicité neurocomportementale que les animaux aient été contaminés à l'âge adulte ou bien lors de différentes phases du développement postnatal. Le fait d'avoir utilisé des doses correspondantes au niveau d'exposition environnemental est sans aucun doute à la base des discordances observées entre les résultats de ce travail et ceux des études publiées par ailleurs, soulignant ainsi la nécessité de réaliser des modèles d'exposition les plus pertinents possibles de la réalité humaine pour pouvoir conclure au mieux quant au risque lié à cette famille de contaminants pour la santé humaine.

Mots clefs : BDE-99, activité, fonctions cognitives, coordination locomotrice, poids corporel, poids des organes, rat.

Sommaire

Liste des publications et communications	1
Liste des abréviations	2
Liste des figures	4
Liste des tableaux	6
Introduction générale	8

Synthèse bibliographique

I. Micropolluants environnementaux	12
1. Micropolluants	12
2. Micropolluants organiques bromés	13
2.1. Le TBBPA.....	14
2.1.1. Structure chimique et synthèse	14
2.1.2. Propriétés physicochimiques	14
2.1.3. Utilisations	15
2.1.4. Réglementation	15
2.2. L'HBCD.....	16
2.2.1 Structure chimique et synthèse	16
2.2.2. Propriétés physicochimiques	17
2.2.3. Utilisations	17
2.2.4. Réglementation	17
2.3. Les PBDEs	18
2.3.1. Structure chimique et synthèse	18
2.3.2. Propriétés physicochimiques	19
2.3.3. Utilisations	20
2.3.4. Réglementation	21
2.3.5. Cas du BDE-99	22
II. Niveau d'exposition humaine aux PBDEs	23
1. Niveaux d'exposition et de contamination humaine	23
2. Voies d'expositions	25
2.1. Voie alimentaire.....	25
2.2. Inhalation et ingestion de poussières ménagères	27
2.3. Voie cutanée	28
2.4. Exposition professionnelle	28
2.5. Conclusion sur le niveau d'exposition humaine aux PBDEs.....	29
III. Effets biologiques des PBDEs	30
1. Toxicocinétique des PBDEs.....	30
1.1. Absorption	30
1.2. Distribution	31
1.3. Métabolisme	32
1.4. Elimination	33
2. Effets toxicologiques	34
2.1. Neurotoxicité	34
2.2. Perturbations de la fonction thyroïdienne	38
2.3. Toxicités hépatique et rénale	42
2.4. Carcinogénicité.....	45
2.5. Perturbations de la reproduction.....	47
2.6. Immunotoxicité	50

2.7. Autres perturbations.....	52
IV. Micropolluants et maladies neurodégénératives.....	53
1. Les maladies neurodégénératives.....	53
1.1. La maladie d'Alzheimer.....	53
1.2. La maladie de Parkinson.....	54
2. Implication des polluants environnementaux, dont les PBDEs, dans la maladie d'Alzheimer et dans la maladie de Parkinson.....	54
V Conclusion.....	55

Matériel et méthodes

I. Animaux.....	58
II. Conditions de stabulation.....	58
III. Polluant et traitements.....	59
1. Préparation des solutions.....	59
2. Administration des traitements.....	59
3. Période d'exposition.....	60
IV. Tests comportementaux.....	60
1. Le Test d'open-field.....	63
2. Le labyrinthe aquatique de Morris.....	64
3. Le labyrinthe en croix surélevé (LCS).....	67
4. Le Test d'Évitement d'un Stimulus Lumineux Aversif (TESLA).....	68
5. Test de coordination locomotrice.....	70
6. Test de reconnaissance sociale.....	71
V. Mesures physiologiques.....	72
1. Evolution pondérale et suivi des animaux.....	72
2. Surveillance de l'ouverture des yeux.....	73
3. Prises alimentaire et hydrique des animaux.....	73
4. Dosage d'enzymes hépatiques.....	73
5. Poids des organes.....	74
6. Dosage de la concentration en BDE-99 dans le tissu adipeux.....	74
VI. Analyses statistiques.....	74

Résultats

Etude I : Effets d'une exposition de 90 jours à des doses environnementales de BDE-99 chez le rat mâle adulte.....

I. Analyse comportementale.....	76
1. Activité locomotrice et exploratoire des animaux dans le test d'open-field.....	76
1.1. Comparaison des performances entre les groupes.....	76
1.2. Evolution des performances au sein de chaque groupe.....	77
2. Mémoire spatiale et apprentissage des animaux dans le labyrinthe aquatique de Morris.....	81
2.1. Comparaison des performances entre les groupes.....	81
2.2. Evolution des performances au sein de chaque groupe.....	82
3. Niveau d'anxiété des animaux dans le labyrinthe en croix surélevé.....	84
3.1. Comparaison des performances entre les groupes.....	84
3.2. Evolution des performances au sein de chaque groupe.....	85
4. Apprentissage des animaux dans le test d'évitement d'un stimulus lumineux aversif (TESLA).....	86

II. Mesures physiologiques.....	88
1. Evolution pondérale	88
2. Evolution des prises alimentaire et hydrique	89
2.1. Prise alimentaire	89
2.2. Prise hydrique	90
3. Taux d'enzymes hépatiques	91
4. Poids des organes	92
5. Concentration en BDE-99 dans le tissu adipeux.....	93

Etude II : Effets d'une exposition de 90 jours à des doses environnementales de BDE-99 chez le jeune traité à partir du sevrage.....94

I. Analyse comportementale	94
1. Activité locomotrice et exploratoire des animaux dans le test d'open-field	94
1.1. Comparaison des performances entre les groupes	94
1.2. Evolution des performances au sein de chaque groupe	95
2. Mémoire spatiale et apprentissage des animaux dans le labyrinthe aquatique de Morris	96
2.1. Comparaison des performances entre les groupes	96
2.2. Evolution des performances au sein de chaque groupe	97
3. Niveau d'anxiété des animaux dans le labyrinthe en croix surélevé	99
3.1. Comparaison des performances entre les groupes	99
3.2. Evolution des performances au sein de chaque groupe	100
4. Apprentissage des animaux dans le test d'évitement d'un stimulus lumineux aversif (TESLA).....	101
5. Mémorisation des animaux dans le test de reconnaissance sociale	102
6. Coordination locomotrice des animaux	104
6.1. Comparaison des performances entre les groupes	105
6.2. Evolution des performances au sein de chaque groupe	105
II. Mesure physiologique	106
1. Evolution pondérale	106
2. Evolution des prises alimentaire et hydrique	107
2.1. Prise alimentaire	107
2.2. Prise hydrique	108
3. Poids des organes	109

Etude III : Effets d'une exposition de 90 jours à des doses environnementales de BDE-99 chez le jeune traité à partir de l'âge de 8 jours.....111

I. Analyse comportementale	111
1. Activité locomotrice et exploratoire des animaux dans le test d'open-field	111
1.1. Comparaison des performances entre les groupes	111
1.2. Evolution des performances au sein de chaque groupe	113
2. Mémoire spatiale et apprentissage des animaux dans le labyrinthe aquatique de Morris	113
2.1. Comparaison des performances entre les groupes	114
2.2. Evolution des performances au sein de chaque groupe	115
3. Niveau d'anxiété des animaux dans le labyrinthe en croix surélevé	116
4. Apprentissage des animaux dans le test d'évitement d'un stimulus lumineux aversif (TESLA).....	118
5. Mémorisation des animaux dans le test de reconnaissance sociale	119
6. Coordination locomotrice des animaux	121

6.1. Comparaison des performances entre les groupes	122
6.2. Evolution des performances au sein de chaque groupe	124
II. Mesures physiologiques.....	125
1. Ouverture des yeux.....	125
2. Evolution pondérale	126
3. Evolution des prises alimentaire et hydrique	128
3.1. Prise alimentaire	128
3.2. Prise hydrique	129
4. Poids des organes	130

Discussion générale

1. Justification du modèle d'exposition	134
2. BDE-99 et activité locomotrice	137
3. BDE-99, apprentissage et mémoire.....	138
4. BDE-99 et coordination locomotrice	139
5. BDE-99 et anxiété	139
6. BDE-99 et ouverture des yeux.....	140
7. BDE-99 et évolution pondérale	141
8. BDE-99 et poids de différents organes.....	142
9. BDE-99 et taux d'enzymes hépatiques	142
10. BDE-99 et concentration en BDE-99 dans le tissu adipeux.....	143
11. Raisons possibles des différences observées entre nos études et celles de la littérature	145

Conclusion générale et perspectives.....	147
---	------------

Références bibliographiques	151
--	------------

Liste des publications et communications

Publications dans des journaux internationaux à comité de lecture

Daubié S, Bisson JF, Lalonde R, Schroeder H, Rychen G (2011). Neurobehavioral and physiological effects of low doses of polybrominated diphenyl ether (PBDE)-99 in male adult rats. *Toxicol Lett*, doi:10.1016/j.toxlet.2011.04.009.

Bisson JF, Daubié S, Hidalgo S, Guillemet D, Linarés E (2010). Diuretic and antioxidant effects of Cacti-Nea, a dehydrated water extract from prickly pear fruit, in rats. *Phytother Res*, 24: 587-94.

Communication lors de congrès

Daubié S, Bisson JF, Hidalgo S, Demade V, Schroeder H, Rychen G (2010). Effets neurocomportementaux d'une administration orale de BDE-99 à faibles doses pendant 90 jours chez le rat mâle Sprague-Dawley. Communication affichée.
Séminaire de l'école doctorale RP2E, Nancy, 28 janvier 2010.

Daubié S, Bisson JF, Hidalgo S, Demade V, Schroeder H, Rychen G (2009). Effets neurocomportementaux d'une administration orale de BDE-99 à faibles doses pendant 90 jours chez le rat mâle Sprague-Dawley. Communication affichée.
Colloque de la Société de Circulation et de Métabolisme du Cerveau : Risque Environnemental et Neuropathologies, Nancy, 2-3 avril 2009.

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique
Ah : Aryl hydrocarbures
ALAT : Alanine aminotransferase
AlCl₃ : Chlorure d'aluminium
ASAT : Aspartate aminotransférase
BCF : Facteur de bioaccumulation
BDE : Bromodiphényléther
BF : Branches fermées
BO : Branches ouvertes
¹⁴C : Marquage au carbone 14
CI₅₀ : Concentration inhibitrice 50 : concentration d'un composé inhibant 50 % de l'effet
CL₅₀ : Concentration létale pour 50 % des individus ou cellules
CLM : Coordination locomotrice
ComDecaBDE : Decabromodiphényléther commercial
ComOctaBDE : Octabromodiphényléther commercial
ComPentaBDE : Pentabromodiphényléther commercial
CYP450 : Cytochrome P450
DBDE : Décabromodiphényléther
DL₅₀ : Dose létale pour 50 % des individus
EB : β-estradiol-3-benzoate
EPN : Ethyl 4-nitrophényl phényl-phosphonothioate
ERO : Espèces réactives de l'oxygène
EROD : Ethoxyresorufin-O-deethylase
E.S.M. : Erreur standard de la moyenne
ETM : Eléments traces métalliques
GD : Jour de gestation
GGT : Gammaglutamyltransférase
HBCD : Hexabromocyclododécane
Ig : Immunoglobulines
i.v. : Intra-veineux
K_{ow} : Coefficient de partage octanol/eau
K-W : Kruskal-Wallis
LA : Levier actif
LAM : Labyrinthe aquatique de Morris

LCS : Labyrinthe en croix surélevé
LI : Levier inactif
LOEL : Dose la plus faible pour laquelle est observé un effet
MA : Maladie d'Alzheimer
MG : Matière grasse
MP : Maladie de Parkinson
NOEL : Dose sans effet observé
OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Économiques
OF : Open-field
OH-BDE : Bromodiphényléther hydroxylé
PBB : Polybromobiphényle
PBDE : Polybromodiphényléther
PCB : Polychlorobiphényle
PA : Phosphatase alcaline
PND : Jour post natal
p.o. : Per os, voie orale
POP : Polluant organique persistant
ppm : Partie par million
PXR : Récepteur de Pregnane
RA : Récepteur des androgènes
RS : Reconnaissance sociale
RFB : Retardateur de flamme bromé
RoHS : Restriction de l'utilisation de certaines substances hasardeuses
s.c. : Sous-cutané
T3 : 3,3',5-triiodothyronine
T4 : 3,3',5,5'-tétraiodothyronine
TBBPA : Tétrabromobisphénol A
TCDD : 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxine
TESLA : Test d'Évitement d'un Stimulus Lumineux Aversif
TSH : Thyroestimuline
TTR : Transthyrétine
UGT : Uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransférase
UR AFPA : Unité de Recherche « Animal et Fonctionnalités des Produits Animaux »
US EPA : Agence des États-Unis pour la protection de l'environnement
WEEE : Déchets d'équipements électriques et électroniques

Liste des figures

Figure 1 : Structure du TBBPA

Figure 2 : Structure de l'HBCD

Figure 3 : Structure des PBDEs

Figure 4 : Structure du BDE-99

Figure 5 : Structure de la T4

Figure 6 : Structure de l'hydroxy-BDE

Figure 7 : Planning des tests comportementaux pour l'étude chez le rat adulte

Figure 8 : Planning des tests comportementaux pour les études chez le jeune

Figure 9 : Dispositif expérimental de l'open-field

Figure 10 : Dispositif expérimental de la piscine de Morris

Figure 11 : Labyrinthe aquatique de Morris dans l'étude chez le rat adulte

Figure 12 : Labyrinthe aquatique de Morris dans les études chez le jeune.

Figure 13 : Dispositif expérimental du LCS

Figure 14 : Dispositif expérimental du TESLA

Figure 15 : Dispositif expérimental du test de coordination locomotrice

Figure 16 : Dispositif expérimental du test de reconnaissance sociale

Figure 17 : Activité locomotrice des animaux dans le test d'open-field avant et après 28, 60 ou 90 jours d'administration de BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, *p.o.*)

Figure 18 : Niveau d'anxiété des animaux dans le test d'open-field avant et après 28, 60 ou 90 jours d'administrations de BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, *p.o.*).

Figure 19 : Temps passé dans le quadrant cible lors du probe-test dans le labyrinthe aquatique de Morris à la fin de l'exposition au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, *p.o.*, 90 jours).

Figure 20 : Latence d'accès à la plate-forme lors du premier essai de chaque jour dans le labyrinthe aquatique de Morris avant et après l'exposition de 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, *p.o.*).

Figure 21 : Latence moyenne d'accès à la plate-forme dans le labyrinthe aquatique de Morris lors du premier jour de test avant et après l'exposition de 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, *p.o.*).

Figure 22 : Evolution pondérale des animaux au cours d'une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, *p.o.*, 90 jours).

Figure 23 : Evolution de la prise alimentaire des animaux au cours d'une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, *p.o.*, 90 jours).

Figure 24 : Evolution de la prise hydrique des animaux au cours d'une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, *p.o.*, 90 jours).

Figure 25 : Temps passé dans le quadrant cible lors du probe-test dans le labyrinthe aquatique de Morris après 28 ou 90 jours d'administration de BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*).

Figure 26 : Latences d'accès à la plate-forme lors du premier essai de chaque jour dans le labyrinthe aquatique de Morris après 28 et 90 jours de traitements au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*).

Figure 27 : Latence moyenne d'accès à la plate-forme lors du jour 1 dans le labyrinthe aquatique de Morris après 28 et 90 jours de traitement au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*).

Figure 28 : Evolution pondérale des animaux au cours d'une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours).

Figure 29 : Evolution de la prise alimentaire des animaux au cours d'une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours) à partir du sevrage.

Figure 30 : Evolution de la prise hydrique des animaux au cours d'une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours) à partir du sevrage.

Figure 31 : Temps passé dans le quadrant cible lors du probe-test dans le labyrinthe aquatique de Morris après 60 ou 90 jours d'administrations de BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*).

Figure 32 : Latences d'accès à la plate-forme lors du premier essai de chaque jour dans le labyrinthe aquatique de Morris après 60 et 90 jours de traitements au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*).

Figure 33 : Latence moyenne d'accès à la plate-forme lors du jour 1 dans le labyrinthe aquatique de Morris après 60 et 90 jours de traitements au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*).

Figure 34 : Coordination locomotrice des animaux dans le test de la tige filetée après une exposition de 12, 21, 60 et 90 au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*).

Figure 35 : Score d'ouverture des yeux des animaux entre l'âge de 15 et 18 jours, soit après une exposition de 8 à 11 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*).

Figure 36 : Evolution pondérale des animaux au cours d'une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours) à partir de l'âge de 8 jours.

Figure 37: Evolution de la prise alimentaire des animaux au cours d'une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours).

Figure 38 : Evolution de la prise hydrique des animaux au cours d'une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours).

Figure 39 : Poids de la rate et du foie des animaux pour 100 g de poids corporel à la fin de la période d'exposition de 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*).

Liste des tableaux

Tableau 1 : Estimation de la demande en RFBs (en tonnes) dans le monde en 2001

Tableau 2 : Nombre d'isomères possibles de PBDE

Tableau 3 : Propriétés physico-chimiques des PBDEs

Tableau 4 : Doses de PBDE reçues (ng/kg/jour) par des nourrissons, des enfants et des adultes à travers différentes voies de contamination

Tableau 5 : Tableau récapitulatif des études portant sur la toxicité neurocomportementale des PBDEs

Tableau 6 : Tableau récapitulatif des études portant sur les perturbations de la fonction thyroïdienne induites par les PBDEs

Tableau 7 : Tableau récapitulatif des études portant sur la toxicité hépatique et rénale des PBDEs

Tableau 8 : Tableau récapitulatif des études portant sur la cancérogénicité des PBDEs

Tableau 9 : Tableau récapitulatif des études portant sur les perturbations de la reproduction des PBDEs

Tableau 10 : Tableau récapitulatif des études portant sur l'immunotoxicité des PBDEs

Tableau 11 : Activité locomotrice et exploratoire des animaux dans le test d'open-field avant et après une exposition de 28, 60 et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*).

Tableau 12 : Exploration et état d'anxiété des animaux dans le labyrinthe en croix surélevé avant et après une exposition au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours).

Tableau 13 : Capacité des animaux à discriminer les leviers dans la session de re-test de 20 minutes dans le TESLA avant et à la fin de l'exposition au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j *p.o.*).

Tableau 14 : Appuis totaux sur les leviers dans la session de test de 20 minutes dans le TESLA avant et à la fin de l'exposition au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j *p.o.*).

Tableau 15 : Poids corporel (g) et gain de poids (g) des animaux au cours d'une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours).

Tableau 16 : Concentration en enzymes hépatiques (UI/L) après une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours).

Tableau 17 : Poids des organes pour 100 g de poids corporel des animaux après une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours).

Tableau 18 : Concentration en BDE-99 dans le tissu adipeux à la fin de l'exposition de 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j *p.o.*).

Tableau 19 : Activité locomotrice et exploratoire des animaux dans le test d'open-field après une exposition de 28 et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j *p.o.*).

Tableau 20 : Exploration et état d'anxiété des animaux dans le labyrinthe en croix surélevé après une exposition de 28 et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j *p.o.*).

Tableau 21 : Capacité des animaux à discriminer les leviers dans la session de test de 20 minutes dans le TESLA après une exposition de 28 et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j *p.o.*).

Tableau 22 : Appuis totaux sur les leviers dans la session de test de 20 minutes dans le TESLA après une exposition de 28 et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j *p.o.*).

Tableau 23 : Mémorisation des animaux dans le test de reconnaissance sociale après une exposition de 28 et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j *p.o.*).

Tableau 24 : Coordination locomotrice des animaux dans le test de la tige filetée après une exposition de 28 et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j *p.o.*).

Tableau 25 : Poids corporel (g) et gain de poids (g) des animaux au cours d'une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours).

Tableau 26 : Poids des organes pour 100 g de poids corporel des animaux après une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours).

Tableau 27 : Activité locomotrice et exploratoire des animaux dans le test d'open-field après une exposition de 21, 60 et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*).

Tableau 28 : Exploration et état d'anxiété des animaux dans le labyrinthe en croix surélevé après une exposition de 60 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j *p.o.*).

Tableau 29 : Capacité des animaux à discriminer les leviers dans la session de test de 20 minutes dans le TESLA après une exposition de 60 et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*).

Tableau 30 : Appuis totaux sur les leviers dans la session de test de 20 minutes dans le TESLA après une exposition de -à et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*).

Tableau 31 : Mémorisation des animaux dans le test de reconnaissance sociale après une exposition de 60 et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*).

Tableau 32 : Coordination locomotrice des animaux dans le test de la tige filetée après une exposition de 12, 21, 60 et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j *p.o.*).

Tableau 33 : Poids corporel (g) et gain de poids (g) des animaux au cours d'une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours).

Tableau 34 : Poids des organes pour 100 g de poids corporel des animaux après une exposition quotidienne au BDE-99 0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours).

Tableau 35 : Concentration en BDE-99 dans le tissu adipeux (ng/g de MG) des animaux

Introduction générale

Pour lutter contre les incendies qui représentent un enjeu majeur tant du point de vue de la santé qu'au point de vue économique, les industriels ont eu recours ces dernières décennies à des « retardateurs de flamme » qui sont des substances chimiques incorporées dans divers matériaux à usages domestiques (meubles, mousses d'isolation, textiles, voitures, appareils électriques...) et industriels et qui agissent en limitant le départ de feu et en retardant la propagation de l'incendie (IPCS, 1994). Une grande partie des retardateurs de flamme sont des retardateurs de flamme bromés (RFBs), ils avaient en effet l'avantage d'être très efficaces et bon marché. Parmi les RFBs, ce sont les Polybromodiphényléthers (PBDEs) qui ont fait l'objet de ces études en raison de leur persistance, leur bioaccumulation dans les matrices animales ou humaines (lait, sérum...) et de leur omniprésence dans l'environnement, extérieur comme intérieur, domestique et industriel (Birnbaum et Staskal, 2004). Ces molécules suscitent donc de nombreuses craintes tant du point de vue environnemental qu'en matière de santé publique.

La progression épidémique des maladies neurodégénératives ne peut pas être expliquée uniquement par l'allongement de l'espérance de vie associé au vieillissement de la population dans les pays industrialisés (Amouyel, 2002 ; Tubiana, 2002). Des polluants environnementaux, émis par les activités humaines vers l'atmosphère sont retrouvés dans l'air ambiant, l'eau, le sol ou dans les matrices alimentaires et contribueraient à l'apparition et au développement de pathologies neurodégénératives (Wright et Keller-Byrne, 2005). Parmi ces polluants, les PBDEs pourraient être impliqués dans la survenue de la maladie d'Alzheimer et de la maladie de Parkinson (Eriksson et al., 2001 ; Mariussen et Fonnum, 2003).

De nombreuses études ont mis en évidence la neurotoxicité ainsi que la toxicité thyroïdienne, hépatique et reproductrice induites par de fortes doses PBDEs, correspondant à des doses 1000 à 10 000 fois plus élevées que les niveaux d'exposition réels de l'Homme. Les conséquences d'une exposition reflétant celle auquel l'Homme est exposé ne sont pas connues à l'heure actuelle.

Une partie de l'activité scientifique au sein de l'UR AFPA est dédiée aux micropolluants et résidus dans la chaîne alimentaire et en particulier à la neurotoxicologie alimentaire. Or les PBDEs sont des molécules retrouvées en quantité non négligeable dans les aliments comme les poissons gras, la viande, les produits laitiers et les œufs. Mon travail de thèse s'inscrit dans ce cadre et a pour but d'étudier l'impact réel que peuvent avoir ces micropolluants sur l'organisme et ainsi d'évaluer les effets d'une exposition de longue durée à des doses environnementales de PBDEs lorsqu'ils sont administrés chez le rat Sprague-Dawley. Ces approches pourraient contribuer au développement d'un modèle animal de maladie d'Alzheimer ou de maladie de Parkinson induit par l'administration de PBDEs et permettant

de tester des molécules d'intérêt thérapeutique en prévention et/ou en traitement de ces pathologies.

La première partie de ce document vise à fournir des connaissances générales sur les micropolluants environnementaux notamment ceux contenant du brome tels que les PBDEs. Ces contaminants ont retenu notre attention en raison de leur prédominance dans l'environnement et dans les tissus humains ainsi qu'en raison de leur toxicité avérée. Nous aborderons ensuite les niveaux d'exposition et de contamination humaine aux PBDEs en présentant les différentes voies d'expositions possibles. Les effets biologiques induits par une exposition aux PBDEs ont également été détaillés avant de rendre compte de l'implication de tels composés dans les maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson.

La seconde partie de cette thèse présente la méthodologie utilisée pour la réalisation des expériences dont les résultats sont présentés dans la troisième partie. Enfin, la dernière partie de ce document est consacrée à la discussion générale des résultats obtenus, aux conclusions qui en découlent ainsi qu'aux perspectives qui peuvent être envisagées.

Synthèse bibliographique

I. Micropolluants environnementaux

1. Micropolluants

Il existe deux principaux types de micropolluants : les micropolluants organiques et les micropolluants minéraux, appelés éléments traces métalliques (ETM). Les ETM sont présents naturellement en quantités très faibles dans les sols, l'eau et l'air, mais certaines activités humaines comme la combustion des déchets industriels ou domestiques ainsi que du pétrole sont des sources d'émissions importantes dans l'environnement. Les principaux ETM retrouvés dans l'environnement sont l'arsenic, le cadmium, le chrome, le cuivre, le mercure, le nickel, le plomb et l'aluminium (Citepa 2004).

Les micropolluants organiques sont essentiellement constitués d'atomes de carbone et d'hydrogène. Il en existe plusieurs dizaines de milliers dans l'environnement. Certains sont d'origine naturelle et d'autres sont produits par des processus chimiques issus de l'activité humaine. Même présents à des concentrations très faibles dans l'air ambiant, l'eau, le sol ou dans les matrices alimentaires, ces composés sont susceptibles d'avoir des impacts importants sur l'environnement et /ou la santé humaine (Rychen et al., 2005).

Parmi les micropolluants organiques, on distingue les polluants organiques persistants (POP) définis par le Protocole d'Aarhus signé en juin 1998 à partir de 4 caractéristiques : ces molécules sont persistantes puisqu'elles sont résistantes aux dégradations biologiques. Elles sont bioaccumulables car elles « s'accumulent » dans les écosystèmes aquatiques et terrestres en se fixant dans les tissus adipeux des organismes vivants. Elles sont toxiques puisque l'exposition à ces substances est susceptible de provoquer des effets nocifs pour les êtres humains, la faune et la flore, aussi bien à proximité qu'à une grande distance de leur source d'émission. Enfin, ces molécules sont mobiles sur de grandes distances, elles peuvent aisément être transportées dans l'atmosphère au-delà des frontières et se déposer loin du lieu d'émission.

Les micropolluants organiques persistants sont, pour la plupart, constitués de 2 cycles aromatiques reliés entre eux par une ou 2 liaisons éther ou carbone-carbone. En fonction de la structure des molécules et des atomes autres que le carbone et l'hydrogène qui les constituent, ils sont regroupés en grandes familles : les micropolluants organiques chlorés (polychlorobiphényles (PCB), les dioxines), fluorés (composés perfluorés), bromés (PBDEs, tétrabromobisphénol A (TBBPA), hexabromocyclododécane (HBCD)) et ceux constitués exclusivement d'atomes de carbone et d'hydrogène organisés sous forme de cycles aromatiques (hydrocarbures aromatiques polycycliques). Notre choix s'est porté sur les micropolluants bromés considérés comme des micropolluants émergents qui sont des

polluants dont les impacts sont encore mal identifiés et dont la concentration dans l'environnement semble être en augmentation contrairement aux autres micropolluants organiques du fait de leur interdiction depuis de nombreuses années dans un grand nombre de pays (Schechter et al., 2005; Schuhmacher et al., 2009).

2. Micropolluants organiques bromés

Dans les années 1960, le brome était utilisé dans un grand nombre de produits comme les pesticides, les additifs présents dans l'essence, les biocides et en quantité moindre pour la fabrication de RFBs (Alaee et al., 2003). Les RFBs sont des substances chimiques incorporés dans divers matériaux à usages domestiques (meubles, mousses d'isolation, textiles, voitures, appareils électriques...) et industriels, ils agissent en limitant le départ de feu et en retardant la propagation de l'incendie (IPCS, 1994).

La production de brome n'a cessé d'augmenter jusqu'à nos jours et depuis les années 2000, la part de brome destinée à la fabrication des RFBs a atteint les 38 % (Alaee et al., 2003). Du point de vue industriel, les RFBs avaient l'avantage d'être efficaces et peu onéreux et ont donc été utilisés de façon massive et croissante ces vingt dernières années. La production totale de RFBs dans le monde était estimée à 150 000 tonnes par an en 1992 (de Wit et al., 2002) et à plus de 200 000 tonnes par an en 2000 (BSEF, 2000). La demande mondiale en RFB s'élevait à environ 300 000 tonnes en 2000 (Alaee et al., 2003).

Lorsque les RFBs sont ajoutés aux polymères en tant qu'« additif », comme c'est le cas des PBDEs et de l'HBCD, ils sont en fait simplement mélangés au polymère et peuvent donc être relargués dans l'environnement. Ces produits chimiques se retrouvent désormais dans tous les biotopes (sol, air, eau) et leur persistance ainsi que leur bioaccumulation dans les organismes vivants conduisent la population à des expositions de plus en plus importantes (Birnbaum et Staskal, 2004).

Les RFBs sont répartis en 7 familles : le TBBPA, l'HBCD, les PBDEs, le polystyrène bromé, les bromophénols, les polybromobiphényles (PBB) et l'anhydride tétrabromophtalique. Le TBBPA, l'HBCD et les PBDEs sont les RFBs les plus utilisés dans le monde (Tableau 1).

Tableau 1 : Estimation de la demande en RFBs (en tonnes) dans le monde en 2001 (Birnbaum et Staskal, 2004)

RFB	Europe	Amérique	Asie	Reste du monde
TBBPA	11 600	18 000	89 400	600
HBCD	9 500	2 800	3 900	500
PBDE	8 360	33 100	24 650	1 330
RFB totaux	29 460	53 900	117 950	2 430

Nous nous intéresserons plus particulièrement à ces 3 RFBs en raison de leur prédominance dans l'environnement et de la disponibilité des informations les concernant.

2.1. Le TBBPA

Le TBBPA est le RFB le plus utilisé au monde avec une consommation annuelle totale estimée à plus de 200 000 tonnes/an (BSEF, 2003). Sa production annuelle s'élevait à 50 000 tonnes/an en 1992 (KEMI, 1994) et à 123 000 tonnes/an en 1999, représentant plus de la moitié de la production totale de RFB cette même année (205 000 tonnes/an) (BSEF, 2000). Le TBBPA représentait même 76 % des BFRs consommés en Asie en 2001 (Watanabe et al., 2010).

2.1.1. Structure chimique et synthèse

Le TBBPA est l'analogue bromé du bisphénol A, composé œstrogéno-mimétique employé dans l'industrie agroalimentaire et ainsi ajouté dans le revêtement des boîtes de conserves et dans les plastiques de certaines bouteilles d'eau ou de sodas.

La formule brute du TBBPA est $C_{15}H_{12}Br_4O_2$. Il est composé de 2 cycles phénols, possédant chacun deux atomes de brome situés en position ortho de la fonction alcool, et reliés entre eux par un groupement isopropyle (Figure 1) (Marongiu et al., 2007).

Le TBBPA est synthétisé par bromation du bisphénol A dans des solvants organiques.

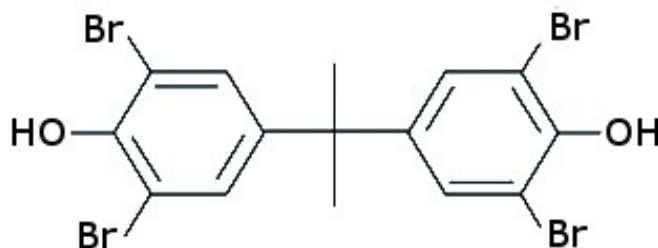


Figure 1 : Structure du TBBPA

2.1.2. Propriétés physicochimiques

Le TBBPA est commercialisé sous forme de poudre avec un poids moléculaire de 543,8 g/mol. C'est un composé très lipophile puisque son coefficient de partage octanol/eau est élevé ($\log K_{ow} = 4,5$) et il très peu soluble dans l'eau (0,72 mg/L à 25°C). Il est plus soluble dans des solvants organiques tels que le méthanol et l'acétonitrile (920 g/L). Son point de fusion est de 180 °C et son point d'ébullition de 316 °C (Birnbbaum et Staskal, 2004 ; IPCS, 1995). Le TBBPA est biodégradable et serait bioaccumulable ($BCF_{poisson} = 485$) (Birnbbaum et

Staskal, 2004 ; IPCS, 1995). La demi-vie de ce composé est cependant très faible dans les poissons (inférieure à un jour) et dans les huîtres (inférieure à cinq jours) (IPCS, 1995).

2.1.3. Utilisations

Le TBBPA est utilisé majoritairement comme RFB réactif, c'est-à-dire inséré au sein du matériau de manière covalente, il est alors moins facilement relargué dans l'environnement que les autres RFBs mais a la contrainte de réagir avec le polymère et d'altérer les propriétés finales du produit (Birnbaum et Staskal, 2004). Il est utilisé comme RFB dans la fabrication de résines époxy ou de polycarbonates, eux-mêmes employés dans la fabrication des cartes de circuits imprimés que l'on retrouve dans la majorité des appareils électroniques. Dans de rares cas (5 %), le TBBPA est utilisé comme additif dans les résines d'acrylonitrile-butadiène-styrène retrouvées dans les boîtiers plastifiés de certains appareils électriques ou électroniques et il peut alors être libéré dans l'environnement (Birnbaum et Staskal, 2004). Le TBBPA est également employé comme RFB dans des équipements électriques ou électroniques industriels ou domestiques tels que des téléviseurs, des ordinateurs... (Strack et al., 2007).

2.1.4. Réglementation

Le TBBPA figure sur la 4^{ème} liste des substances prioritaires au titre du règlement n° 793/93/CEE du Conseil du 23 mars 1993. Cette substance a donc fait l'objet d'une évaluation des risques le concernant. Les risques ont finalement été jugés peu probables et les mesures de réduction des risques déjà appliquées ont été jugées suffisantes (JO C 152 du 18 juin 2008).

Deux directives européennes ont fait leur apparition en 2003. Il s'agit de la RoHS (Restriction of use of hazardous Substances) et de la WEEE (Waste of Electric and Electronic Equipments). La première prévoit la limitation de l'utilisation du plomb, du mercure, du cadmium, du chrome hexavalent et de 2 retardateurs de flamme (les PBBs et les PBDEs) dans certains équipements électriques et électroniques, notamment les biens de consommation domestique, commercialisés en Europe. Depuis le 1^{er} juillet 2006, la mise sur le marché de l'Union européenne d'équipements de ce type contenant plus de 0,1 % en masse d'un de ces 6 composés est interdit. La limite est fixée à 0,01 % pour le cadmium.

La directive WEEE concerne principalement la mise en place de circuits logistique de récupération d'équipements en fin de vie par leurs fabricants, ainsi que leur recyclage ou retraitement par des entreprises spécialisées, elle a aussi un impact sur la conception des équipements, puisqu'ils doivent pouvoir être désassemblés aisément par les « recycleurs ». La WEEE est applicable depuis août 2005.

La Commission Européenne a présenté en décembre 2008 un projet de révision des Directives RoHS et WEEE qui concernent les équipements électriques et électroniques. Le TBBPA a fait l'objet d'une évaluation des risques par l'Union Européenne mais n'a finalement pas été ajouté à la liste des substances à restreindre ou à éliminer.

De plus, les principaux éco-labels permettent l'utilisation du TBBPA dans les circuits imprimés notamment dans les parties inférieures à 25 g.

La production, la commercialisation et l'utilisation du TBBPA sont donc autorisées partout dans le monde.

2.2. L'HBCD

L'HBCD est commercialisé comme ignifugeant depuis 1984 et sa production annuelle s'élevait à 16 700 tonnes en 2001 (BSEF, 2006). Cette substance est plus largement utilisée en Europe qu'en Amérique puisque 57 % de la quantité d'HBCD produit en 2001 était utilisée en Europe cette même année (Birnbbaum et Staskal, 2004).

2.2.1 Structure chimique et synthèse

L'HBCD, contrairement au TBBPA et aux PBDEs, n'est pas un composé aromatique mais cyclo-aliphatique. Il est constitué d'un cycle de 12 carbones dont 6 d'entre eux possèdent un atome de brome (Figure 2). La formule brute de ce composé est $C_{12}H_{18}Br_6$ (Alaee et al., 2003).

L'HBCD est en fait un mélange d'au moins 8 stéréoisomères qui ont tous la même formule brute et le même cycle de 12 carbones mais qui diffèrent entre eux par leur structure spatiale.

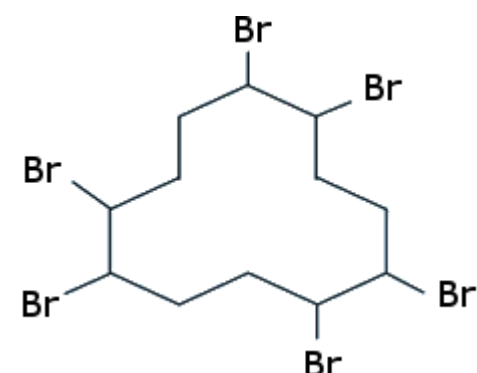


Figure 2 : Structure de l'HBCD

L'HBCD est synthétisé par bromation du cyclododécatriène (Alaee et al., 2003).

2.2.2. Propriétés physicochimiques

L'HBCD est commercialisé sous forme de poudre avec un poids moléculaire de 641,7 g/mol. Comme c'est le cas pour les autres RFBs, l'HBCD est un composé très lipophile puisque son coefficient de partage octanol/eau est élevé ($\log K_{ow} = 5,6$). Il est également très peu soluble dans l'eau (0,0034 mg/L à 25°C) mais il est plus soluble dans des solvants organiques tels que le méthanol, l'éthanol et l'acétone. Son point de fusion est supérieur à 180 °C et sa pression de vapeur est faible ($4,7 \times 10^{-7}$ mm Hg) (Birnbaum et Staskal, 2004).

L'HBCD n'est pas biodégradable et serait bioaccumulable ($BCF_{poisson} = 18\ 100$) (Birnbaum et Staskal, 2004). Ce composé est dit persistant car sa demi-vie est de 3 jours dans l'air et est comprise entre 2 et 25 jours dans l'eau (Lyman, 1990).

2.2.3. Utilisations

L'HBCD est utilisé comme RFB additif, il est en fait seulement mélangé avec les autres éléments des polymères ce qui en fait un composé plus facilement relargué dans l'environnement (Alaee et al., 2003). L'HBCD est utilisé de manière courante dans le polystyrène expansé destiné à l'isolation thermique des bâtiments, où seulement de très faibles doses sont nécessaires, ou dans le polystyrène compact résistant aux chocs. Il est aussi employé comme ignifugeant dans les textiles (Alaee et al., 2003).

2.2.4. Réglementation

L'HBCD est inscrit sur la 2^{ème} liste de substances prioritaires au titre du règlement n° 793/93/CEE du Conseil du 23 mars 1993. Cette substance a donc fait l'objet d'une évaluation des risques le concernant. L'utilisation de l'HBCD n'a pas été interdite car il ne serait pas toxique. L'utilisation de l'HBCD est actuellement encore autorisée mais l'analyse des risques a montré qu'il remplissait tous les critères d'une substance persistante, bioaccumulable et toxique (<http://ecb.jrc.ec.europa.eu/esis/>). Selon l'article 57 de la nouvelle réglementation chimique européenne REACH (enregistrement-évaluation-autorisation et restriction des produits chimiques), l'HBCD figure depuis octobre 2008 sur la liste des substances extrêmement préoccupantes et a ainsi été classé parmi les substances PBT (<http://www.senat.fr>). Le 17 février 2011, il a été décidé que six substances extrêmement préoccupantes dont l'HBCD seront interdites dans les 3 à 5 ans à venir sauf pour les entreprises auxquelles seront accordées une autorisation d'utilisation.

2.3. Les PBDEs

La suite de l'introduction bibliographique ne traitera que des PBDEs car ces molécules sont plus préoccupantes en termes de toxicité, de bioaccumulation, de persistance ainsi qu'en termes de concentration tissulaire retrouvée chez l'Homme.

Les PBDEs sont produits en très grande quantité depuis les années 1980. Dans les années 1990, leur production mondiale a été estimée à 40 000 tonnes/an dont 75 % de ComDecaBDE, 15 % de ComOctaBDE et 10 % de ComPentaBDE (ECB, 2002). A cette époque, la production au sein de l'Union européenne était estimée à environ 4 000 tonnes/an (ECB, 2002). En 2002, la production mondiale de PBDEs a légèrement augmenté et était comprise entre 40 000 et 65 000 tonnes/an. La consommation de ComDecaBDE en Europe était estimée à 8 200 tonnes/an en 2002 (Brignon et al., 2006). Du fait de la réglementation, la production de mélanges commerciaux PentaBDE et OctaBDE a complètement cessé en France et dans l'Union européenne depuis 2004. De nombreuses études avaient en effet mise en évidence la toxicité de ces produits.

2.3.1. Structure chimique et synthèse

Les PBDEs sont une catégorie de substances possédant une structure de base identique, soit 2 cycles phénols, possédant chacun entre 1 et 10 atomes de brome, reliés entre eux par une liaison éther (Figure 3). La formule brute des PBDEs est $C_{12}H_{(10-n)}Br_nO$ avec la somme des atomes d'hydrogène et de brome toujours égale à 10 (Figure 3) (Bellés et al., 2010).

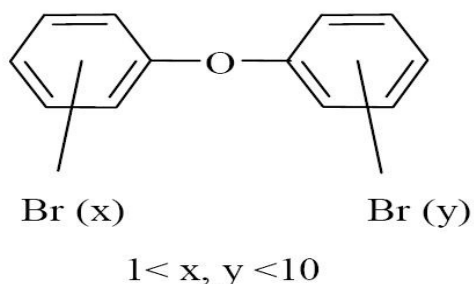


Figure 3 : Structure des PBDEs

Les PBDEs sont synthétisés par bromation des diphenyléthers en présence d'un catalyseur de Fridel-Craft tel que le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) (Alaee et al., 2003). Il existe 10 groupes d'isomères (du mono au décabromodiphenyléther) répartis en 209 congénères théoriques qui diffèrent par le nombre et la position d'atomes de brome fixés sur la molécule (tableau 2).

Tableau 2 : Nombre d'isomères possibles de PBDE

Substitutions bromés	Nombre d'isomères
Mono-	3
Di-	12
Tri-	24
Tetra-	42
Penta-	46
Hexa-	42
Hepta-	24
Octa-	12
Nona-	3
Déca-	1

Les PBDEs sont synthétisés sous forme de mélanges, appelés pentaBDE commercial (ou ComPentaBDE contenant surtout des Tetra-, Penta- et Hexa-BDE et ayant comme congénères majoritaires le BDE-47 (2,2',4,4'-tétraBDE) et le BDE-99 (2,2',4,4',5-pentaBDE)), octaBDE commercial (ou ComOctaBDE composés essentiellement de l'Hepta-, Octa- et HexaBDE et ayant comme congénère majoritaire le 2,2',3,4,4',5',6-heptaBDE (BDE-183)) et décaBDE commercial (ou ComDecaBDE contenant presque que du DecaBDE (BDE-209)) (Gaul et al., 2005 ; IPCS, 1994).

Le ComDecaBDE est le second RFB le plus utilisé après le TBBPA.

2.3.2. Propriétés physicochimiques

Le ComOctaBDE et le ComDecaBDE sont commercialisés sous la forme d'une poudre blanche contrairement au ComPentaBDE qui se présente sous la forme d'un liquide visqueux. Les propriétés physicochimiques des PBDEs dépendent de leurs caractéristiques structurales mais ce sont généralement des molécules très stables et non hydrolysables, assez résistantes aux dégradations physiques, chimiques ou biologiques. Les PBDEs commerciaux sont constitués de congénères ayant un poids moléculaire élevé. Ils sont stables vis-à-vis de la température puisqu'ils ont un point d'ébullition compris entre 310 et 425 °C, ils ont une pression de vapeur faible et ce sont des molécules très lipophiles (coefficients de partage octanol/eau très élevés, compris entre 6,5 et 10) à température ambiante (Darnierud et al., 2001). Les PBDEs sont également très peu hydrosolubles, en particulier pour ce qui est des congénères les plus bromés. Leur solubilité dans les solvants dépend de leur degré de bromation. En effet, plus le nombre d'atomes de brome est

important moins le PBDE est soluble dans ces solvants (Darnerud et al., 2001). Les propriétés physico-chimiques des PBDEs sont résumées dans le tableau 3.

Tableau 3 : Propriétés physico-chimiques des PBDEs (IPCS, 1994)

	ComPentaBDE	ComOctaBDE	ComDecaBDE
Formule chimique	$C_{12}H_5Br_5O$	$C_{12}H_2Br_8O$	$C_{12}Br_{10}O$
Masse molaire (g/mol)	564,8	801,5	959,2
Pression de vapeur (Pa, 21°C)	$4,69 \times 10^{-5}$	$6,59 \times 10^{-6}$	$4,63 \times 10^{-6}$
Point de fusion (°C)	92-98	200	290-306
Solubilité dans l'eau (25 °C, µg/L)	13,3	0,5	< 0,1
Log K_{ow}	6,5-7,4	8,4-8,9	10
BCF_{poisson}	14 350	< 4	Faible potentiel de bioaccumulation

2.3.3. Utilisations

Les PBDEs, comme l'HBCD, sont utilisés comme RFB additifs, dans des domaines larges et variés. On les retrouve dans le domaine du transport (parties électriques et électroniques, revêtements textiles des voitures, avions...), de la construction (polystyrène, polyuréthane, peinture, éclairage, isolation des toits...), de l'industrie (produits de la chimie, polymères, résines, colles, mousse de polyuréthane pour les meubles et les garnitures intérieures), du textile (tapis, canapé, matelas...) ainsi que dans le domaine des équipements électroniques (boîtiers et circuits imprimés de télévisions, d'ordinateurs, de téléphones...) (Siddiqi et al., 2003).

Le ComPentaBDE est principalement utilisé (95-98 %) comme additif dans les mousses de polyuréthane utilisées dans le mobilier et le capitonnage pour l'ameublement de la maison (Costa et Giordano, 2007 ; Wenning, 2002) ainsi que dans les voitures (tapis, appui-tête). Le ComOctaBDE est principalement employé comme additif à un type de plastique appelé l'acrylonitrile-butadiène-styrène constituant les équipements de bureau et les appareils électriques tels que les ordinateurs et les fax. Le ComDecaBDE est soit mélangé à des polymères, soit à des textiles. Il est principalement ajouté dans le polystyrène résistant aux chocs retrouvé dans les télévisions ainsi que dans les polymères des équipements électriques et électroniques. Le ComDecaBDE est aussi utilisé dans le plastique des jouets et c'est le seul mélange commercial utilisé dans les textiles de rembourrage des canapés, de chaises... Il n'est pas employé pour les vêtements (Wenning, 2002; Brignon et al., 2006).

2.3.4. Réglementation

La directive 2003/11/EC, applicable depuis le 14 août 2004, a interdit au sein de l'Union européenne la mise sur le marché et l'utilisation des mélanges ComPentaBDE et ComOctaBDE ainsi que la mise sur le marché d'articles contenant des concentrations supérieures à 0,1 % en masse de ComPentaBDE ou de ComOctaBDE (Roosens et al., 2010).

Par ailleurs, la directive européenne RoHS 2002/95/EC de 2003 a interdit, depuis le 1^{er} juillet 2006, la mise sur le marché de nouveaux équipements électriques et électroniques, à usage domestique notamment, contenant des PBDEs, à l'exception du ComDecaBDE qui était encore autorisé (Chen et al., 2009).

En revanche, la directive européenne WEEE 2002/96/EC de 2003, applicable depuis août 2005, concerne tous les PBDEs et a pour objectif la mise en place de circuits de récupération d'équipements électroniques et électriques par leurs fabricants et leur recyclage par des entreprises spécialisées (Chen et al., 2009). Les plastiques contenant des PBDEs doivent être séparés des déchets d'équipements électriques et électroniques pour un recyclage sans danger.

Sur le plan international, la Convention de Stockholm, signée en mai 2001 dans le cadre des Nations Unies pour l'environnement et entrée en vigueur en mai 2004, est une entente internationale légalement contraignante qui a été ratifiée par 128 pays (<http://www.pops.int/documents/convtext/>). L'objet de cette convention est de contrôler, de réduire ou d'éliminer les émissions de 12 POPs dans l'environnement. Ces POPs peuvent être des pesticides (aldrine, chlordane, dieldrine, dichlorodiphényltrichloroéthane, endrine, heptachlore, mirex et toxaphène), des produits chimiques industriels (hexachlorobenzène et PCBs), des sous-produits involontaires des processus de combustion et de productions industrielles (dioxines et furannes). En vertu de cette entente, les parties doivent prendre des mesures pour interdire la fabrication et l'importation de produits chimiques énumérés aux annexes A et B de la convention.

Le Comité d'étude des polluants organiques persistants de la Convention de Stockholm a conclu en 2005 que les mélanges commerciaux PentaBDE et OctaBDE étaient des POPs (<http://www.pops.int/documents/meetings/poprc>). Le Comité a recommandé à la quatrième Conférence des parties qui a eu lieu du 4 au 8 mai 2009 d'envisager l'ajout, sans exemption, du ComPentaBDE et du ComOctaBDE mais aussi des BDE-47, 99, 153, 154, 175, 183 à la liste des substances de l'annexe A, annexe concernant l'élimination, de la Convention de Stockholm (<http://chm.pops.int/>).

En décembre 2008, les parties à la Convention Pollution Transfrontalière Longue Distance ont conclu que le ComPentaBDE et le ComOctaBDE étaient des POPs et il a été convenu de

les ajouter à la liste des substances de l'annexe 1 du Protocole sur les POPs afin d'en éliminer la production et l'utilisation.

Dans un arrêt du 1^{er} avril 2008, l'exemption décidée par la Commission européenne relative à l'utilisation du ComDecaBDE a été annulée par la cour de justice des communautés européennes. Depuis juillet 2008, le ComDecaBDE est donc interdit en Europe dans les équipements électriques et électroniques mais il est encore utilisé dans les plastiques et les textiles. Cette même année, le ComDecaBDE a également été interdit aux Etats-Unis dans les états de Washington et du Maine dans les équipements électroniques et vidéo ainsi que dans les matelas et les meubles (Stapleton et al., 2008).

Les mélanges commerciaux ComPentaBDE et ComOctaBDE ont été bannis de l'Union européenne en 2004 et dans plusieurs états des Etats-Unis tels que la Californie, le Maine et Hawaii en 2006 ainsi que dans l'état de Washington à partir de 2008 (Costa et Giordano, 2007). Les producteurs des ComPentaBDE et ComOctaBDE aux Etats-Unis ont volontairement cessé la production de ces mélanges en 2004 (Costa et Giordano, 2007) mais leur utilisation va continuer et ne cessera que lorsque les stocks seront totalement épuisés (<http://www.pops.int/documents/meetings/poprc>). Depuis 2008, le ComDecaBDE a été interdit en Europe et dans 2 états des Etats-Unis notamment dans les équipements électriques et électroniques (Stapleton et al., 2008).

2.3.5. Cas du BDE-99

Le BDE-99, ou 2,2',4,4',5-pentaBDE, contient comme son nom l'indique 5 atomes de brome. La formule brute du BDE-99 est $C_{12}H_5Br_5O$ et son poids moléculaire est de 564,7 g/mol (Figure 4). Son numéro CAS est 32534-81-9 (<http://www.pops.int/documents/meetings/poprc>).

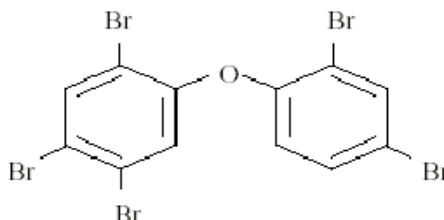


Figure 4 : Structure du BDE-99

La demi-vie du BDE-99 dépend de la matrice environnementale dans laquelle il se trouve. En effet, sa demi-vie est estimée à 600 jours dans les sédiments aérobies (Palm, 2001 ; Palm et al., 2002), 150 jours dans le sol et l'eau (Palm, 2001 ; Palm et al., 2002) et 11 jours

dans l'air (Palm et al., 2002). Aux vues de ces données, le BDE-99 est considéré comme un composé persistant.

Le BDE-99 est le principal élément constitutif du ComPentaBDE avec le BDE-47. C'est l'un des PBDEs le plus retrouvé dans l'environnement, qu'il s'agisse du sol, des sédiments, de l'eau ou de l'air (Birnbaum and Staskal, 2004 ; Darnerud et al., 2001). Le BDE-99 est l'un des PBDEs qui a le plus important potentiel de bioaccumulation et de bioamplification. En effet, une hausse de la concentration de cette molécule est retrouvée dans les organismes au fur et à mesure qu'augmente le niveau trophique (<http://www.pops.int/documents/meetings/poprc>).

Ne possédant que peu d'atomes de brome, le BDE-99 est léger et donc volatile. Wania et Dugani (2003) ont estimé la distance de transport de ce congénère dans l'air entre 608 et 1 349 km.

Le BDE-99, avec le BDE-47, sont les congénères majoritairement retrouvés dans les tissus humains et animaux (Darnerud et al., 2001 ; McDonald, 2002) ainsi que dans le lait maternel (Hites, 2004).

Le BDE-99 est l'un des PBDEs les plus toxiques. Sur le plan de la reproduction chez les invertébrés, la CE_{50} pour le développement des larves du copépode marin est de 4mg/l pour le BDE-99 et de 13 mg/l pour le BDE-47.

Le BDE-99 est la molécule qui a été retenue pour nos études car c'est l'un des PBDEs les plus toxiques, bioaccumulables et persistants. C'est aussi l'un des constituants majeurs d'une solution commerciale: le PentaBDE. Bien que cette solution soit interdite de vente et d'utilisation depuis 2004, de nombreux matériaux contenant ce mélange sont encore en circulation et rejettent continuellement des congénères dans l'environnement.

II. Niveau d'exposition humaine aux PBDEs

1. Niveaux d'exposition et de contamination humaine

Le sang, le tissu adipeux et le lait maternel sont les matrices humaines les plus souvent analysées. L'exposition *in utero* du fœtus étant désormais démontrée, des matrices telles que le sang de cordon ombilical, le placenta et plus rarement le foie fœtal humain sont également analysées.

D'après Inoue et al. (2006), Costa et Giordano (2007) et Siddiqi et al. (2003), l'exposition aux PBDEs est variable d'un continent à un autre. Les niveaux observés chez des personnes vivant en Amérique du Nord sont environ 10 à 70 fois plus importants que ceux détectés chez les Européens (Schechter et al., 2003 ; Sjödin et al., 2008). Pour McDonald (2002), la raison de cette large variabilité est encore inconnue mais pourrait être due à différents

facteurs comme le régime alimentaire (forte consommation de poisson) (Darnerud et al., 2001), l'exposition professionnelle (Sjödin et al., 1999, 2001), l'utilisation de produits contenant des PBDEs (Darnerud et al., 2001) et une réglementation plus ou moins stricte. Les profils des congénères sont également différents. En effet, les PBDEs faiblement bromés, tels que le BDE-47 (tétraBDE) et le BDE-99 (pentaBDE), sont les principaux congénères retrouvés chez les Nord Américains alors que le DBDE (décaBDE) est le congénère majoritaire chez les Européens (Covaci et Voorspoels, 2005 ; Schecter et al., 2005).

Parmi les PBDEs, cinq sont des contaminants majeurs des tissus humains : un tétraBDE (BDE-47), deux pentaBDE (BDE-99 et BDE-100) et deux hexaBDE (BDE-153 et BDE-154). Cependant, les congénères les plus lourds (octaBDE au DBDE) ont été très peu pris en compte en raison des difficultés liées à leur analyse. Il apparaît pourtant maintenant que ces composés de haut poids moléculaire ne sont pas négligeables et que leur concentration pourrait augmenter dans les matrices humaines. En effet, avec l'interdiction il y a quelques années de l'utilisation de mélanges commerciaux tels que le ComPentaBDE ou le ComOctaBDE, 80 % des PBDEs sont désormais utilisés sous forme de ComDecaBDE.

Selon Jones-Otazo et al. (2005), les expositions moyennes quotidiennes aux PBDEs en milieu urbain au Canada, toutes classes d'âge et toutes voies confondues, seraient d'environ 155 ng/j pour les adultes, correspondant à une dose de 2 ng/kg, et 1 965 ng/j, correspondant à une dose de 280 ng/kg, pour les nourrissons allaités. Cependant, ces doses sont très variables.

Chez les Européens, les concentrations moyennes en PBDE totaux sont de 20 ng/g de matière grasse (MG) dans le plasma (Covaci et al., 2002) et sont comprises entre 4 et 13 ng/g de MG dans le tissu adipeux (Covaci et al., 2002 ; Schecter et al., 2005 ; Sjödin et al., 2003). Les congénères majoritaires sont le DBDE et le BDE-47 (Covaci et Voorspoels, 2005 ; Thomsen et al., 2005). Chez les Nord Américains, les concentrations moyennes en PBDE totaux sont de 60 ng/g de MG dans le plasma et de 25 ng/g de MG dans le tissu adipeux selon Schecter et al. (2005). D'après Johnson-Restrepo et al. (2005), la concentration en PBDEs dans le tissu adipeux des Nord Américains varie de 17 à 9630 ng/g de MG avec une moyenne égale à 399 ng/g de MG. Le congénère majoritaire est le BDE-47 (Schecter et al., 2005).

Les niveaux de PBDE dans le lait maternel sont également bien plus élevés chez les femmes Nord Américaines (75 ng/g de MG) que chez les femmes Européennes (2 ng/g de MG) (Schecter et al., 2003). Les concentrations en PBDE dans le sang maternel et dans le sang du cordon ombilical sont du même ordre (Mazdai et al., 2003) et les taux de PBDE

dans le placenta humain se situent entre 1 et 4,4 ng/g de MG selon Strandman et al., (2000) ce qui signifie que ces polluants passent la barrière placentaire. De plus, Schecter et al. (2006a) ont confirmé ces résultats par la mise en évidence des PBDEs dans les foies de fœtus humains à des taux avoisinant 15 ng/g de MG et allant jusqu'à 100 ng/g de MG. Par ailleurs, la présence de métabolites hydroxylés a été mis en évidence dans les matrices biologiques humaines (Bergman et al., 2006).

Contrairement aux PCBs dont les concentrations chez l'Homme augmenteraient avec l'âge de la personne en raison de leur accumulation dans le tissu adipeux, les niveaux de PBDE chez l'Homme semblent rester constants tout au long de la vie, excepté pour les jeunes enfants âgés de 0 à 4 ans dont les concentrations en PBDE dans le sérum sont les plus élevées (Costa and Giordano, 2007 ; Thomsen et al., 2005). Même si les taux de PBDE ne varient pas en fonction du sexe, les femmes présentent généralement des taux inférieurs à ceux des hommes (Thomsen et al., 2002). Ceci serait lié au fait que les femmes mobilisent de façon importante des lipides au cours de la grossesse mais surtout au cours de l'allaitement ce qui induit une diminution des teneurs en PBDE dans l'organisme maternel.

Chez l'adulte, la principale source de contamination est liée à l'inhalation ou à l'ingestion de poussières alors que chez les nourrissons, l'essentiel (90%) de la contamination proviendrait du lait maternel (Jones-Otazo et al., 2005). D'après Wilford et al. (2005), l'alimentation chez l'adulte apporterait 90% de la dose journalière en PBDE, contre 14 % et 4 % pour l'ingestion et l'inhalation de poussières ménagères, respectivement. Cependant, dans le cas d'un environnement comportant beaucoup de poussières, l'ingestion de poussières ménagères peut contribuer pour 80 % à la contamination d'un adulte par les PBDEs. L'ingestion de poussières chez le jeune enfant participerait pour 80 à 90 % de la contamination par les PBDEs (Wilford et al., 2005).

L'exposition et le profil des PBDEs sont variables d'un continent à un autre. La principale source d'exposition est l'alimentation ou l'ingestion de poussières ménagères chez l'adulte, l'ingestion de ces poussières chez les jeunes enfants alors qu'il s'agit de l'alimentation (lait maternel) chez les nourrissons allaités par leur mère. Les contaminants majeurs des tissus humains sont les PBDEs les moins bromés.

2. Voies d'expositions

2.1. Voie alimentaire

La voie alimentaire représente une des voies d'entrée principale des PBDEs dans les tissus humains (Wilford et al., 2005). La corrélation entre les niveaux de PBDEs dans le sang

humain des Scandinaves et leur consommation de poissons gras issus des zones contaminées a été mis en évidence (Sjödin et al., 2000). C'est dans le poisson, principalement les poissons gras, et les produits de la mer que l'on retrouve la plus forte teneur en PBDE suivi par la viande et les produits laitiers (Darnerud et al., 2001 ; Schechter et al., 2008). Cependant, la viande constituerait la source majeure de PBDE dans la nourriture aux Etats-Unis (Hites et al., 2004 ; Jones-Otazo et al., 2005 ; Schechter et al., 2004, 2006b). Une étude réalisée chez des végétariens a montré en effet que leur taux plasmatique en PBDEs totaux (12,4- 127 ng/g de MG) était inférieur à celui retrouvé chez des personnes non végétariennes (4-366 ng/g de MG) (Schechter et al., 2006c). L'apport de PBDE par les produits de la mer représenterait 33 à 80 % des apports totaux en PBDE (Bragigand, 2005). La quantité de PBDE ingérée dépend de la quantité de produits de la mer consommée, de la zone géographique dans laquelle vivent ces organismes aquatiques et de l'espèce animale considérée, la concentration en PBDE étant la plus élevée chez les poissons gras comme l'anguille par rapport aux autres poissons ou crustacés comme les crevettes (Bragigand et al., 2006). Il faut aussi prendre en compte que les produits provenant d'élevages sont vraisemblablement moins contaminés que les animaux sauvages (Zennegg et al., 2003). L'aliment le plus contaminé par les PBDEs est le lait maternel (Costa and Giordano, 2007) étant donné le caractère hautement lipophile des PBDEs. Les concentrations en PBDE dans cette matrice est variable d'un pays à un autre ; le niveau médian de PBDE dans le lait maternel en ng/g de MG est 1.3 au Japon, 2.3 en Allemagne, 25 au Canada et 58 aux Etats-Unis (NorthWest Environment Watch, 2004).

L'exposition quotidienne aux PBDEs, par le biais de l'alimentation, a été estimée chez l'adulte, tous PBDEs confondus, à 1,2-1,4 ng/kg/j en Espagne (Bocio et al., 2003), à 1,5 ng/kg/j au Royaume-Uni (Harrad et al., 2004) et à 0,58-0,63 ng/kg/j en Suède (Schechter et al., 2006b). Aux Etats-Unis, l'exposition journalière chez l'enfant a été évaluée à 2.5 ng/kg/j (Schechter et al., 2006a). Les plus exposés aux PBDEs sont les nourrissons allaités par leur mère, l'exposition a en effet été estimée à 307 ng/kg/j durant leur première année (Schechter et al., 2006b). Au Canada, elle a également été évaluée entre 3,4 et 4 100 ng/kg/j pour des nourrissons (Jones-Otazo et al., 2005).

Les congénères les plus retrouvés dans l'alimentation sont les BDE-47, 99 et 100 (Schechter et al., 2004) mais peu de travaux ont inclus le dosage du DBDE aussi bien concernant la contamination des denrées alimentaires que celle de l'environnement.

Les niveaux de contamination des aliments en PBDE pourraient diminuer avec la cuisson (Schechter et al., 2008). En effet, faire griller du poisson ou de la viande contaminés par les

PBDEs, permet d'extraire une partie de la graisse de ces aliments et contribue donc à diminuer la teneur en PBDE, fortement lipophiles, de l'alimentation (Schechter et al., 2008).

La voie alimentaire est l'une des voies d'entrée principale des PBDEs dans les tissus humains. Le taux d'exposition va dépendre du type de régime alimentaire, de sa quantité et de la provenance des denrées. Cependant, les taux relativement élevés de PBDEs dans l'alimentation ne peut être la seule explication aux niveaux 30 fois supérieurs de PBDEs dans le sang et le lait maternel de la population Nord-américaine par rapport à la population européenne (Jones-Otazo et al., 2005 ; Wilford et al., 2005 ; Schechter et al., 2006b).

2.2. Inhalation et ingestion de poussières ménagères

La poussière d'intérieur constitue une source majeur de contamination par les PBDEs étant donné que ces derniers sont adsorbés sur les particules de poussières (Jones-Otazo et al., 2005 ; Wilford et al., 2005). La présence de PBDEs dans les poussières résulterait essentiellement de la volatilisation de ces composés à partir d'appareils en fonctionnement ou de leur relargage à partir de textiles d'habillement ou d'ameublement (rideaux, coussins, moquette...) contenant des PBDEs (Wildford et al., 2004). La concentration en PBDE dans la poussière de maison est comprise entre 800 et 30 000 ng/g (Stapleton et al., 2006). Le DBDE est le PBDE majoritaire dans les poussières ménagères, suivi par le BDE-99 et le BDE-47 (Stapleton et al., 2006) alors que ces deux derniers congénères sont majoritaires dans l'air intérieur (Johnson-Restrepo et Kannan, 2009).

Chez les jeunes enfants âgés de 6 mois à 4 ans, l'exposition aux PBDEs par l'inhalation et l'ingestion de poussière représente environ 90 % de l'exposition (Wilford et al., 2005). Ils passent en effet beaucoup de temps à jouer au ras du sol, où s'accumule la poussière, et ont souvent des peluches ou jouets qu'ils portent fréquemment à la bouche (US EPA, 2002). Les jeunes enfants ingèreraient approximativement 100 mg de poussière par jour, contre 50 mg pour les adultes (US EPA, 1997). La différence est encore plus marquée par la différence de poids qu'il y a entre les enfants et les adultes. La quantité de PBDE reçue par l'inhalation ou l'ingestion de poussière ménagère chez un enfant est comprise entre 0,46 et 19 270 ng/j, équivalent à une dose comprise entre 0,035 et 1 482 ng/kg/j pour un enfant d'environ 13 kg (US EPA 2002) contre une quantité de 0,8 à 4 970 ng/j chez un adulte, équivalent à une dose comprise entre 0,01 et 71 ng/kg/j (US EPA 2002). La quantité de PBDE ingérés par le biais des poussières ménagères chez de jeunes enfants (1 à 4 ans) habitant à Washington serait comprise entre 120 et 6 000 ng/j, équivalent à des doses comprises entre 9,2 et 461,5 ng/kg/j (Stapleton et al., 2005). Dans des cas extrêmes, l'exposition peut être plus importante

et atteindre 20 µg/j tous PBDEs confondus, soit une dose de 1 538 ng/kg/j, chez un enfant qui vit dans un foyer comportant un taux de poussière important et dans lequel il y aurait de nombreux éléments susceptibles de relarguer des PBDEs dans l'air (moquettes, tissus d'ameublement, matériaux d'isolation, système de ventilation...) ou dans lequel l'air est peu renouvelé (Jones-Otazo et al., 2005 ; Wilford et al., 2005).

L'ingestion et l'inhalation de poussières ménagères est l'une des voies d'entrée principale des PBDEs dans les tissus humains avec la voie alimentaire. Le niveau d'exposition va dépendre du nombre d'appareils ou d'objets susceptibles de relarguer des PBDEs dans l'air, de la quantité de poussière à l'intérieur du foyer et de la fréquence de renouvellement de l'air intérieur.

2.3. Voie cutanée

Très peu de données sont disponibles concernant l'exposition aux PBDEs par la voie cutanée. D'après Frederiksen et al. (2009), cette voie de contamination n'aurait qu'un rôle mineur. L'exposition aux PBDEs par le biais des poussières ménagères comprend l'absorption cutanée de ces molécules qui a d'ailleurs été estimée à 0,77 ng/kg/j pour les nourrissons, 0,34 ng/kg/j pour les adultes et elle est comprise entre 0,46 et 0,7 chez les enfants (Johnson-Restrepo et Kannan, 2009).

Des échantillons de peau humaine sont conservés congelés avant d'être utilisés pour les tests futurs en laboratoire visant à déterminer la perméabilité cutanée aux micropolluants organiques environnementaux. Cependant, ces tests *in vitro* ont des limites car des études ont montré que la conservation au congélateur réduit la perméabilité cutanée à certains produits chimiques (Moody et al., 2009).

Des tests de toxicité aiguë effectués sur des lapins de laboratoire ont permis de déterminer les doses létales (DL)₅₀ des mélanges commerciaux ComOctaBDE et ComDecaBDE qui sont supérieures à 2 g/kg. Une irritation passagère des yeux a été observée après un contact cutané avec du ComDecaBDE mais aucune irritation de la peau n'a été mise en évidence.

2.4. Exposition professionnelle

La concentration en PBDE dans l'air intérieur à proximité des équipements de recyclage de produits contenant des retardateurs de flamme serait approximativement 1 000 fois plus élevée que dans celle mesurée dans l'environnement intérieur en général (Cahill et al., 2007). Les employés d'une usine de démantèlement d'appareils électroniques en Californie étaient exposés à des doses de PBDE comprises entre 38,2 et 40 ng/kg/j (Cahill et al.,

2007). Pourtant, la concentration en DécaBDE (BDE-209) dans l'air dans cette usine était estimée à 650 ng/m³ et sachant que le volume d'air inspiré par jour chez un adulte est d'environ 13 m³ (US EPA, 1996), la dose journalière à laquelle sont soumis les employés s'élève à 8 450 ng/j de DécaBDE soit une dose de 121 ng/kg/j si on considère le poids moyen d'un homme égal à 70 kg.

L'exposition à de fortes concentrations en PBDE dans l'air sur le lieu de travail influe sur les taux de PBDE retrouvés chez l'Homme. Par exemple, la concentration en PBDE dans le sang du personnel d'une usine de démantèlement d'appareils ignifugés est 10 fois plus élevée que celle détectée dans le sang de personnels hospitaliers (Sjodin et al., 1999). En effet, les concentrations en PBDEs totaux retrouvées dans le sang de ces personnes s'élevaient respectivement à 26 µg/kg de MG contre 3 µg/kg de MG (Darnierud et al., 2001). Ces ouvriers fortement exposés sont principalement contaminés par les PBDEs de haut poids moléculaire comme le DBDE alors qu'il s'agit du BDE-47 pour le personnel hospitalier. (Thuresson et al., 2006).

2.5. Conclusion sur le niveau d'exposition humaine aux PBDEs

Les 2 voies d'entrées principales des PBDEs dans l'organisme sont donc la voie alimentaire et l'ingestion/inhalation de poussières ménagères. Dans tous les cas, les jeunes enfants sont les plus exposés à ces polluants environnementaux. Les données concernant l'exposition des nourrissons, des enfants et des adultes aux PBDEs par différentes voies de contamination sont reportées dans le tableau 4.

Tableau 4 : Doses de PBDE reçues (ng/kg/jour) par des nourrissons, des enfants et des adultes à travers différentes voies de contamination

	Adultes	Jeunes enfants	Nourrissons allaités par leur mère
Voie alimentaire	0,58-0,63 (Suède) (Schechter et al., 2006b) 1,2-1,4 (Espagne) (Bocio et al., 2003) 1,5 (Royaume-Unis) (Harrad et al., 2004)	2,5 (Etats-Unis) (Schechter et al., 2006a)	307 (Etats-Unis) (Schechter et al., 2006b) 3,4-4 100 (Canada) (Jones-Otazo et al., 2005)
Ingestion et inhalation de poussières	0,01-71 (US EPA, 2002)	0,035-1 538 (US EPA, 2002 ; Jones-Otazo et al., 2005) 9,2-461,5 (Washington) (Stapleton et al., 2005)	Données manquantes
Voie cutanée	0,34 (Johnson-Restrepo et Kannan, 2009)	0,46-0,7 (Johnson-Restrepo et Kannan, 2009)	0,77 (Johnson-Restrepo et Kannan, 2009)
Exposition professionnelle	38,2-40 (Californie) (Cahill et al., 2007) 121 (calcul)	-	-

III. Effets biologiques des PBDEs

1. Toxicocinétique des PBDEs

1.1. Absorption

Peu de données sont disponibles quant à la comparaison de l'absorption des PBDEs par ingestion d'aliments contaminés, ingestion et/ ou inhalation de poussières ménagères ou contact cutané. Toutefois, la voie alimentaire et l'ingestion/inhalation de poussières ménagères constitueraient les voies d'absorption principales des PBDEs alors que leur absorption par la voie cutanée semble très limitée. Elle est en effet estimée à environ 1 %, par exemple, pour le DBDE (Birnbaum et Staskal, 2004).

Il est connu que l'absorption diminue avec l'augmentation du degré de bromation. L'absorption des PBDEs est très différente selon le congénère administré et l'espèce animale utilisée. Ainsi, le BDE-99 est absorbé à plus de 50 % chez des rats Sprague-Dawley mâles (Hakk et al., 2002). Chez cette même souche de rats, l'injection de molécules de DBDE marquées au ¹⁴C par voie orale, à des doses allant de 1 à 5 000 mg/kg, a abouti à une faible absorption de cette molécule puisque 99 % de la radioactivité a été retrouvé dans les fèces 72 h après l'administration (el Dareer et al., 1987 ; Norris et al., 1975). Deux études plus récentes dans lesquelles le DBDE était administré par voie orale à des doses uniques de 1,9 ou 2,8 mg/kg à des rats ont montré que la biodisponibilité de ce produit avait été

sous-estimée. En effet, ces deux études ont conclu respectivement à une absorption minimale de 10 et 26 % (Morck et al., 2003 ; Sandholm et al., 2003).

Une autre étude réalisée chez le rat a montré que le ComDecaBDE est principalement absorbé par l'intestin avec une biodisponibilité d'environ 26 % (Birnbaum et Staskal, 2004).

La voie alimentaire et l'ingestion et/ ou l'inhalation de poussières ménagères sont les voies majeures d'absorption des PBDEs. Cette absorption est inversement corrélée à leur degré de bromation et dépend du type de PBDE administré.

1.2. Distribution

Après leur absorption, les PBDEs sont détectés à des niveaux différents dans le sang, le foie, le tissu adipeux. Leur répartition est dépendante du modèle animal (rats, souris, poissons...) et des propriétés physico-chimiques des PBDEs (solubilité, nombre d'atomes de brome).

Cependant, au vue de leur coefficient octanol/eau élevé, ces substances sont susceptibles de se distribuer préférentiellement dans les graisses. En effet, dans une étude effectuée chez des rats mâles traités avec du BDE-47 marqué au ^{14}C , la radioactivité était 70 fois plus élevée dans le tissu adipeux que dans les autres tissus après 5 jours d'exposition, ceci étant lié aux propriétés lipophiles de la molécule (Orn et Kalsson-Wehler, 1998). Dans les mêmes conditions expérimentales, l'étude menée sur des souris a révélé une radioactivité seulement 10 fois plus importante dans le tissu adipeux par rapport aux autres tissus (Orn et Kalsson-Wehler, 1998). Cette différence est liée à la variabilité entre les deux espèces.

Le tissu adipeux constitue donc un site de stockage important pour les congénères les moins bromés tels que le BDE-99 et le BDE-47 (Hakk et al., 2002 ; Staskal et al., 2006). La bioaccumulation augmenterait avec la diminution du degré de bromation (Hakk et al., 2006 ; Huwe et al., 2002 ; Orn et Kalsson-Wehler, 1998). En effet, en raison de leur poids moléculaire plus faible, les PBDEs les moins bromés sont stockés plus facilement dans les tissus riches en lipides et ils ont tendance à s'accumuler en raison de leur caractère persistant (Hakk et al., 2002).

Le BDE-47 se distribue préférentiellement dans les tissus adipeux, puis dans le foie, les poumons, les reins et le cerveau (Birnbaum et Staskal, 2004). Les principaux sites de distribution concernant le BDE-99 sont les tissus adipeux, les glandes surrénales, le tractus gastro-intestinal et la peau (Birnbaum et Staskal, 2004 ; Hakk et al., 2002).

Soixante-douze heures après l'administration d'une dose unique de DBDE *per os* chez le rat, cette molécule est essentiellement retrouvée dans le foie (0,5 partie par million (ppm) et dans les glandes surrénales (1,2 ppm) (Morck et al., 2003). Des souriceaux âgés de 3 et 10

jours au moment de l'administration unique de DBDE marqué au ^{14}C par voie orale (2,2 ou 20,1 mg/kg et 1,3, 13,4 ou 20,1 mg/kg, respectivement), 0,5 % de la radioactivité était localisée dans le cerveau, avec une augmentation de la radioactivité détectée 7 jours après l'exposition (Viberg et al., 2003a).

Après leur absorption, les PBDEs sont retrouvés dans le sang, le sérum, le tissu adipeux, le lait, le placenta et se répartissent dans différents organes selon le type de PBDE (Siddiqi et al., 2003). D'une manière générale, contrairement aux PBDEs fortement bromés (octa et décaBDE) qui sont faiblement absorbés et qui s'accumulent peu, les PBDEs faiblement bromés (tétra aux hexaBDE) vont être fortement absorbés et accumulés (Mc Donald, 2002).

1.3. Métabolisme

Les mammifères et les espèces aquatiques présentent des aptitudes à métaboliser les PBDEs par des processus d'oxydation et ainsi former des dérivés métaboliques hydroxylés (OH-BDE) et/ou méthoxylés (MeO-BDE) (Asplund et al., 1999 ; Hakk et al., 2002).

Suite à l'administration d'une dose unique de DBDE marqué au ^{14}C *per os* chez des rats, des métabolites hydroxylés et/ou méthoxylés ainsi que des métabolites issus de la débromation du DBDE (nonaBDE aux hexaBDE) ont été détectés dans les fèces, le plasma et le foie. Soixante cinq pour cent de la dose unique administrée *per os* étaient retrouvés sous forme de métabolites dans les fèces 3 jours après l'exposition (Morck et al., 2003).

Dans l'étude d'El Dareer et al. (1987), la part de métabolites du DBDE dans les fèces était comprise entre 1 et 28 %. Ces auteurs suggèrent un effet de la flore bactérienne dans le processus de débromation. Cependant, la mise en évidence de voies de métabolisation oxydative incite à penser davantage à une métabolisation par les enzymes hépatiques. En effet, les cytochromes P450 sont des monooxygénases présentes en grande quantité dans le foie et elles sont impliquées dans la phase I (phase d'oxydation) du métabolisme des xénobiotiques. Elles ajoutent un atome d'oxygène en présence d'un atome d'hydrogène sur la molécule hydrophobe à éliminer.

La présence de métabolites hydroxylés retrouvés dans le plasma de rats après une administration par voie intrapéritonéale d'un mélange de PBDEs (Malmberg et al., 2005) ou de PBDEs isolés (BDE-47 et BDE-99) (Hakk et al., 2002 ; Marsh et al., 2006) vient confirmer cette hypothèse.

Thuresson et al. (2006) ont également suggéré que la débromation du DBDE pouvait également se produire chez l'Homme après s'être aperçu de la présence d'une forte proportion de nonaBDE et octaBDE dans le plasma.

Au vu des études réalisées, l'animal pourrait donc métaboliser les PBDEs suivant des voies d'oxydation et/ou de réduction, pour donner des métabolites correspondant à des PBDEs moins bromés, éventuellement sous la forme d'hydroxy-BDE ou méthoxy-BDE.

1.4. Elimination

L'élimination des PBDEs est très différente selon le congénère administré et l'espèce animale utilisée. L'élimination du BDE-47, par exemple, est principalement fécale chez le rat puisque 14 % du polluant est retrouvé dans les fèces contre moins de 0,5 % dans l'urine. L'élimination du BDE-47 n'est par contre pas limitée à la voie fécale chez la souris puisqu'un tiers de la dose administrée est excrété par voie urinaire et 20 % de celle-ci est retrouvée dans les fèces 5 jours après l'exposition (Orn et Klasson-Wehler, 1998, de Wit, 2002). De plus, chez les rats, les PBDEs les moins bromés seraient les moins excrétés et les composés d'origine les plus excrétés contrairement aux souris chez qui la plupart des métabolites sont excrétés (Hakk et al., 2002 ; Orn et Klasson-Wehler, 1998). D'après Staskal et al. (2006), les taux d'excrétion des PBDEs sont inversement proportionnels à leur concentration tissulaire. En effet, après une administration unique de PBDEs (BDE-47, BDE-99, BDE-100 ou BDE-153) à la dose de 1 mg/kg chez des souris C57BL/6 femelles, le BDE-47 est le plus rapidement excrété suivi du BDE-99, BDE-100 et BDE-153. Pourtant, d'après Mc Donald (2002), les PBDEs les plus bromés sont rapidement éliminés contrairement à ceux faiblement bromés (tétra aux hexaBDE).

L'élimination du DBDE chez le rat, après une administration par voie intraveineuse, est tout de même rapide puisque sa demi-vie a été évaluée à 58 h (Sandholm et al., 2003). Chez l'homme, elle serait d'environ 15 jours (Thuresson et al., 2006).

Les PBDEs peuvent également être excrétés dans le lait maternel chez l'animal lors de l'allaitement. En effet, d'après Darnerud et Risberg (2006), l'injection d'un mélange de pentaBDE (BDE-85 et BDE-99) chez des souris C57BL allaitantes est suivie par un passage élevé de la radioactivité administrée dans le lait. Dans cette étude, 20 % de la dose administrée (par voie orale ou intra-veineuse) est transférée à la portée par le biais du lait.

Chez le rat, l'exposition des mères, de souche Long-Evans, à un mélange commercial (le penta-mix) entraîne l'induction d'enzymes hépatiques et la diminution du taux de l'hormone thyroïdienne 3,3',5,5'-tétraïodothyronine (T4) chez les fœtus ce qui laisse supposer un passage transplacentaire (Zhou et al., 2002).

L'élimination des PBDEs dépend de l'espèce animale utilisée mais également du type de PBDE administré.

2. Effets toxicologiques

2.1. Neurotoxicité

D'après Siddiqi et al. (2003), ce sont les enfants et les jeunes adultes qui sont les plus enclins aux disfonctionnements du développement après une exposition aux PBDEs. Des études réalisées chez les rongeurs viennent confirmer cette hypothèse.

En effet, l'administration orale aiguë de BDE-99 aux doses comprises entre 0,8 à 12 mg/kg chez des souriceaux âgés de 3 ou 10 jours a induit chez ces animaux à l'âge adulte des altérations du comportement spontané, qui se traduisent généralement par de l'hyperactivité (Branchi et al., 2005 ; Eriksson et al., 2001, 2002 ; Viberg et al., 2004) ou de l'hypoactivité (Branchi et al., 2002). Par contre, le comportement spontané n'est pas altéré si les animaux sont exposés au BDE-99 ou au BDE-209 à l'âge de 19 jours (Eriksson et al., 2002 ; Viberg et al., 2003a), suggérant une période critique de développement rapide du cerveau au cours de laquelle les animaux seraient les plus vulnérables aux polluants. Cette phase se situerait aux alentours du dixième jour après la naissance d'après Eriksson et al. (2002).

De même, des altérations de l'apprentissage et de la mémoire ont été observées chez des animaux exposés au BDE-99 (Cheng et al., 2009 ; Eriksson et al., 2001), au BDE-47 (He et al., 2009) ou au BDE-209 (Wu et al., 2008) au cours de la période périnatale ou lors du 10^{ème} jour de vie postnatale alors que l'administration de BDE-99 chez de jeunes rats adultes à la dose unique de 0,6 ou 1,2 mg/kg n'a induit aucune perturbation de l'apprentissage, de la mémoire ni de l'activité locomotrice de ces animaux testés 45 jours après l'exposition (Bellés et al., 2010). Ces effets se manifesteraient donc quand l'exposition aux PBDEs se produit durant la phase critique de développement du cerveau qui se situe aux alentours du 10^{ème} jour après la naissance (postnatal day (PND) 10) chez les rongeurs (Eriksson et al., 2002 ; ECB, 2002). Ces altérations du comportement spontané, de l'apprentissage et de la mémoire causées par les PBDEs seraient irréversibles et empireraient avec l'âge (Eriksson et al., 1998,1999 ; Viberg et al., 2003a,b ; Wu et al., 2008). Des souris C57BL6/J mâles et femelles exposées au BDE-209 de l'âge de 2 à 15 jours, à des doses de 6 ou 20 mg/kg, ont même présenté des troubles de l'apprentissage qu'une fois l'âge de 16 mois atteint, indiquant que les effets toxiques liés aux PBDEs peuvent apparaître de manière retardée (Rice et al., 2009).

Certains auteurs pensaient que la neurotoxicité était essentiellement causée par les tétraBDEs et les pentaBDEs (Eriksson et al., 2001 ; Hooper et Mc Donald, 2000). Pourtant, des effets similaires au BDE-99 ont été observés avec le BDE-153 et le BDE-209, prouvant ainsi que les PBDEs fortement bromés présentaient une neurotoxicité non négligeable (Eriksson et al., 2002 ; ECB, 2003).

Les doses administrées aux animaux sont habituellement très élevées, de l'ordre de quelques mg/kg à plusieurs centaines de mg/kg, et donc non représentatives de la pollution à laquelle l'homme est réellement exposé. En effet, les doses journalières estimées en PBDEs totaux, toutes voies confondues, varieraient entre 1 000 et 10 000 ng/j (Jones-Otazo et al., 2005 ; Schechter et al., 2006b ; US EPA, 2002), correspondant à des concentrations de 14 à 140 ng/kg/j. Or, il faut multiplier ces doses par 10 pour qu'elles soient applicables au rat du fait de son métabolisme plus rapide (Allen et al., 1994). Kuriyama et al. (2005) ont mis en évidence une hyperactivité chez des rats devenus adultes dont la mère a reçu au sixième jour de gestation (Gestational day (GD) 6) une administration unique de faibles doses de BDE-99 (0,06 et 0,3 mg/kg). Ce sont les doses de BDE-99 les plus faibles reportées à ce jour ayant un effet toxique *in vivo*.

Les résultats de différentes études récentes sont contradictoires en ce qui concerne l'activité globale des animaux et leur habitude à la situation expérimentale. En effet, dans l'étude de Rice et al. (2007), des souris C57BL6/J mâles et femelles exposées au BDE-209 de l'âge de 2 à 15 jours, à des doses de 6 ou 20 mg/kg présentaient une augmentation de leur activité globale et une augmentation de leur habitude alors que des résultats inverses ont été obtenus dans les études réalisées par Viberg et al. (2003a), dans lesquelles, des souris NMR1 mâles étaient exposées à des doses uniques de 2,22 ou 20,1 mg/kg des BDE-209 à l'âge de 3 jours ou à des doses de 1,34, 13,4 ou 20,1 mg/kg du même polluant à l'âge de 10 jours. Des études réalisées chez des rats Sprague-Dawley mâles traités à la dose unique de 6,7 ou 20,1 mg/kg de BDE-209 à l'âge de 3 jours (Viberg et al., 2007) ou chez des souris NMR1 mâles exposées à une dose unique de 2,22, 13,4 et 20,1 mg/kg de BDE-209 à l'âge de 3 jours (Johansson et al., 2008) ont également mis en évidence une diminution de l'habitude des animaux à la situation expérimentale. Au cours d'un test d'activité locomotrice, une diminution de l'habitude des animaux est mise en évidence lorsqu'ils présentent une hypoactivité au début du test et une hyperactivité à la fin de ce test.

Les études portant sur la toxicité neurocomportementale induite par les PBDEs sont reportées dans le tableau 5.

Tableau 5 : Tableau récapitulatif des études portant sur la toxicité neurocomportementale des PBDEs

Molécule	Dose (mg/kg)	Mode d'exposition	Age début du traitement	Espèce	Effets relevés
BDE-99	0,8 - 12	Dose unique <i>p.o.</i>	PND 3 ou 10	Souris NMR1	- hyperactivité - altérations de la mémoire et apprentissage à l'âge adulte - effets empirant avec le temps
BDE-99	8	Dose unique <i>p.o.</i>	PND 19	Souris NMR1	aucun effet observé sur le comportement spontané
BDE-99	0,06 et 0,3	Dose unique <i>p.o.</i>	GD 6	Rats Wistar	- hyperactivité à PND 36 (dose 0,3) - hyperactivité à PND 71 (doses 0,06 et 0,3)
BDE-99	0,6, 6 et 30	Administrations quotidiennes <i>p.o.</i> pendant gestation et lactation (GD 6-PND 21)	GD 6	Souris CD-1	hypoactivité dose-dépendante à PND 34, PND 60 et PND 120
BDE-99	18	Administrations quotidiennes <i>p.o.</i> pendant gestation et lactation (GD 6-PND 21)	GD 6	Souris CD-1	hyperactivité à PND 34 mais non à PND 60, PND 90 et PND 120
BDE-99	2	Administrations quotidiennes <i>p.o.</i> pendant gestation et lactation (GD 6-PND 21)	GD 6	Rats Sprague-Dawley	altérations de la mémoire et apprentissage
BDE-99	0,6 et 1,2	Dose unique <i>p.o.</i>	adulte	Rats Sprague-Dawley	aucun effet observé sur l'activité ni sur la mémoire et l'apprentissage
BDE-47	1, 5 ou 10	Dose unique <i>p.o.</i>	PND 10	Rats Sprague-Dawley	altérations de la mémoire et apprentissage à l'âge de 2 mois
BDE-153	0,45, 0,9 et 9	Dose unique <i>p.o.</i>	PND 10	Souris NMR1	- altérations de la mémoire et apprentissage - altérations de l'activité spontanée (manque d'habituation) - effets empirant avec le temps
BDE-209	6 et 20	Administrations quotidiennes <i>p.o.</i> PND 2 à 15	PND 2	Souris C57BL6/J	altérations de l'apprentissage uniquement à partir de l'âge de 16 mois
BDE-209	100, 300, 600 et 1200	Administrations quotidiennes <i>p.o.</i> pendant la gestation et lactation	-	Rats Wistar	- altérations de la mémoire et apprentissage - aucun effet observé avec la dose 100 mg/kg
BDE-209	2,22 et 20,1 (PND 3) 1,34, 13,4 et 20,1 (PND 10)	Dose unique <i>p.o.</i>	PND 3 ou 10	Souris NMR1	- altérations de l'activité spontanée (manque d'habituation) chez les animaux traités à PND 3 - effets empirant avec le temps
BDE-209	6,7 et 20,1	Dose unique <i>p.o.</i>	PND 3	Rats Sprague-Dawley	altérations de l'activité spontanée (manque d'habituation)
BDE-209	2,22, 13,4 et 20,1	Dose unique <i>p.o.</i>	PND 3	Souris NMR1	altérations de l'activité spontanée (manque d'habituation)
BDE-209	2,22 et 20,1	Dose unique <i>p.o.</i>	PND 19	Souris NMR1	aucun effet observé sur le comportement spontané

Abréviation : *p.o.*, *per os*.

D'après Cheng et al. (2009), l'exposition périnatale de rats Sprague-Dawley au BDE-99 a entraîné un stress oxydatif au niveau de l'hippocampe de ces animaux en altérant les enzymes anti-oxydantes telles que la superoxyde dismutase et la glutathion peroxydase.

Viberg et al. ont mis en évidence (2004) la diminution du nombre de récepteurs cholinergiques nicotiniques dans l'hippocampe de souris adultes traitées à l'âge de 10 jours avec une dose unique minimale de 0,4 mg/kg/j de BDE-99. Ils ont également montré une diminution du nombre de récepteurs cholinergiques muscariniques dans l'hippocampe de rats adultes traités à l'âge de 10 jours avec une dose unique minimale de 0,8 mg/kg/j de BDE-99 en 2005.

Des études *in vitro* effectuées par Mariussen et Fonnum (2003) ont suggéré qu'une exposition au ComPentaBDE avait induit une inhibition de la recapture de la dopamine dans des cellules de cerveau de rat avec une concentration inhibitrice (CI)₅₀ de 8 µM. L'exposition au ComPentaBDE, induisant plus précisément une faible inhibition de la recapture de la dopamine au niveau du neurone dopaminergique pré-synaptique mais une forte inhibition de la recapture vésiculaire de cette molécule, induirait une accumulation de la dopamine dans le cytoplasme du neurone. Or cette dernière serait facilement oxydée dans ce compartiment contribuant ainsi à l'augmentation des dommages oxydatifs au sein du neurone dopaminergique pouvant conduire à la mort de ce dernier. Le potentiel neurotoxique du ComPentaBDE (ou DE-71) a également été mis en évidence au cours d'études *in vitro* sur les cellules granuleuses du cervelet. En effet, ces cellules ont été exposées aux différentes solutions commerciales à différentes concentrations. La concentration létale (CL)₅₀ du ComPentaBDE a été estimée à 7 µM alors que les solutions ComOctaBDE et ComDecaBDE n'ont pas eu d'effets marquants aux concentrations testées. A une concentration de 10 µM, ces deux solutions commerciales ont en effet induit respectivement 16,4 et 11,5 % de mort cellulaire (Reistad et al., 2006).

Le BDE-99 à la concentration de 50 µM serait responsable, quant à lui, de l'apoptose (mort cellulaire programmée) d'astrocytomes (cellules tumorales développées à partir de cellules astrocytaires) en culture via un mécanisme dépendant de la protéine p53 (Madia et al., 2004). L'étude de Tagliaferri et al. (2010), montre les effets synergiques d'une co-exposition au BDE-47 et au BDE-99 sur l'induction d'un stress oxydatif dans des neuroblastomes humains à la condition que les concentrations en BDE-47 soient faibles. Si ce n'est pas le cas, c'est-à-dire si la concentration en BDE-47 est proche de la valeur de CL₅₀, des effets antagonistes des congénères sont observés.

D'après Huang et al. (2010) et Giordano et al. (2008), le ComPentaBDE ou les congénères seuls induisent un stress oxydatif dans des cellules neuronales *in vitro* qui serait à l'origine de l'apoptose de ces cellules. Le potentiel inducteur de stress oxydatif des différents congénères est par ordre décroissant : BDE-100 > BDE-47 > BDE-99 > BDE-153 >> BDE-

209 (Huang et al., 2010). Pourtant, Yu et al. (2008) ont montré que l'apoptose de cellules de neuroblastomes humains, incubées avec du ComPentaBDE, n'était pas induite par un stress oxydatif mais qu'elle était dépendante de la voie de signalisation dépendante des caspases. De plus, selon Giordano et al., (2008), la neurotoxicité du ComPenta-BDE serait dépendante des taux de glutathion intracellulaire de l'individu, qui est lui-même gouverné par le polymorphisme génétique.

La neurotoxicité des PBDEs a été mise en évidence dans des études in vivo et in vitro. Dans la plupart des études in vivo, les PBDEs sont administrés en aigu et à de fortes doses chez des nouveaux-nés au cours de la phase critique de développement du cerveau. La No Observable Effect Limit (NOEL) concernant la neurotoxicité serait comprise entre 0,4 et 0,8 mg/kg/j chez la souris. Cependant, une étude effectuée chez le rat indiquerait une LOEL (Lowest Observed Effect Level) de 0,06 mg/kg/j.

2.2. Perturbations de la fonction thyroïdienne

La structure chimique des PBDEs est très proche de celle des hormones thyroïdiennes, la 3,3',5-triiodothyronine (appelée T3) et la 3,3',5,5'-tétraïodothyronine (appelée T4 ou thyroxine), puisque comme ces dernières, les métabolites des PBDEs sont des diphenyléthers hydroxylés ou halogénés (Mc Donald, 2002) (Figures 5 et 6). Ces polluants pourraient donc être de potentiels perturbateurs endocriniens via des altérations de l'homéostasie des hormones thyroïdiennes.

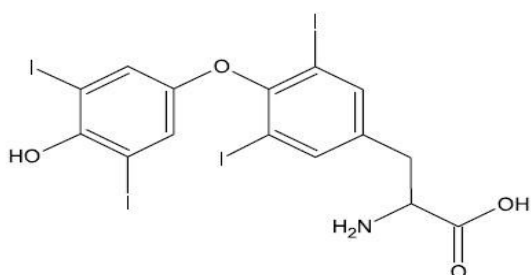


Figure 5 : Structure de la T4

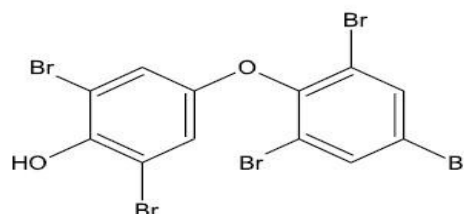


Figure 6 : Structure de l'hydroxy-BDE

Tous les PBDEs commerciaux (ComPentaBDE, ComOctaBDE et ComDecaBDE) perturbent l'équilibre des hormones thyroïdiennes mais le ComDecaBDE dans une moindre mesure (Darnierud et al., 2001 ; Hooper et Mc Donald, 2000 ; Zhou et al., 2001). Chez les mammifères, les PBDEs induisent généralement une diminution du taux de la T4 alors que les taux de la T3 et de la Thyroid Stimulating Hormone (TSH ou Thyroestimuline) sont abaissés. En effet, une diminution du taux de la T4 a été mise en évidence chez des animaux exposés au BDE-47 (doses de 100 mg/kg pendant 4 jours à des souris femelles

C57BL/6 âgées de 9 semaines (Richardson et al., 2008)), au BDE-99 (exposition prénatale à des doses de 0,06 et 0,3 mg/kg chez des rats Wistar (Kuriyama et al., 2007)), au BDE-209 (exposition prénatale à des doses de 5 à 320 mg/kg chez des rats Sprague-Dawley (Kim et al., 2009)) ou au ComPentaBDE (exposition périnatale à des doses de 10, 10,2 et 30,6 mg/kg chez des rats Long-Evans (Szabo et al., 2009 ; Zhou et al., 2002) ou exposition de 4 jours à la dose de 0,3 mg/kg chez des rats Long-Evans âgés de 28 jours (Zhou et al., 2001)).

L'administration de BDE-47 a également induit une diminution du taux de la T3 en plus de celle de la T4 alors que le taux de TSH est resté inchangé dans les études réalisées par Abdelouahab et al. (2009) (exposition prénatale à des doses de 0,2 à 20 µg/kg chez des moutons) et par Liu et al. (2009) (doses de 1 à 100 µmol/kg/j pendant 4 jours chez des souris C57 BL/6).

Une exposition périnatale au BDE-99 (452 mg/kg au total) à des souris NMR1 (Skarman et al., 2005) ou une exposition prénatale au BDE-209 (10-1 500 mg/kg) à des souris CD-1 (Tseng et al., 2008) n'ont pas induit de modifications des taux de T4. Seule une diminution du taux de la T3 a été mise en évidence dans cette dernière étude.

Les études portant sur les perturbations de la fonction thyroïdienne induite *in vivo* par les PBDEs sont reportées dans le tableau 6.

Tableau 6 : Tableau récapitulatif des études portant sur les perturbations de la fonction thyroïdienne induites par les PBDEs

Molécule	Dose (mg/kg)	Mode d'exposition	Age début du traitement	Espèce	Effets relevés
BDE-47	100	Administrations quotidiennes <i>p.o.</i> pendant 4 j	9 semaines	Souris C57BL/6	diminution du taux de la T4 de 43 %
BDE-47	0,0002, 0,002 et 0,02	Administrations hebdomadaire <i>i.v.</i> de la 5 ^{ème} à la 15 ^{ème} semaine de gestation	5 ^{ème} semaine de gestation	mouton	diminution du taux de la T4 et de la T3
BDE-99	0,06 et 0,3	Dose unique <i>p.o.</i>	GD 6	Rats Wistar	diminution du taux de la T4 à PND 22 mais pas à PND 1 ni PND 14
BDE-99	452 mg/kg total équivalent à environ 13mg/kg/j	Administrations quotidiennes <i>p.o.</i> GD 4 à PND 17	GD 4	souris NMR1	aucun effet sur le taux de la T4
BDE-209	5, 40 ou 320	Administrations quotidiennes <i>p.o.</i> GD 6 à GD 18	GD 6	Rats Sprague-Dawley	- diminution du taux de la T4 chez les femelles à PND 42 (effet dose dépendant) - augmentation du poids de la thyroïde (dose 320)
BDE-209	10, 500 et 1500	Administrations quotidiennes <i>p.o.</i> GD 0 à GD 17	GD 0	souris CD-1	- aucun effet sur le taux de la T4 - diminution du taux de la T3
ComPentaBDE	1,7, 10,2 et 30,6	Administrations quotidiennes <i>p.o.</i> GD 6 à PND 21	GD 6	Rats Long-Evans	diminution du taux de la T4 à PND 4 et à PND 21 (doses 10,2 et 30,6)
ComPentaBDE	1, 10 et 30	Administrations quotidiennes <i>p.o.</i> GD 6 à PND 21	GD 6	Rats Long-Evans	- diminution du taux de la T4 à GD 20, à PND 4 et PND 14 (doses 10 et 30) - taux de T4 non différent des témoins à PND 36 - aucun effet sur le taux de la T3
ComPentaBDE	0,3	Administrations quotidiennes <i>p.o.</i> pendant 4 j	28 jours	Rats Long-Evans	diminution du taux de la T4

Abbréviation : *i.v.*, intra-veineux.

L'homéostasie des hormones thyroïdiennes est perturbée par différents mécanismes.

Tout d'abord, les PBDEs perturbent le transport des hormones thyroïdiennes. En effet, les métabolites hydroxylés des PBDEs se lient avec une forte affinité sur la protéine de transport des hormones thyroïdiennes (la transthyréline (TTR)) (Meerts et al., 2000) et vont rentrer en compétition avec la T4. Le taux de T4 sous forme libre dans le sang s'en trouve augmenté mais celle-ci a une demi-vie moindre par rapport à la forme liée (Brouwer et al., 1998 ; Lans et al., 1993). La TTR est très importante pour le transport fœtal et maternel des hormones thyroïdiennes chez les vertébrés et pour le transport des hormones thyroïdiennes à travers la barrière hémato-encéphalique (Schreiber et al., 1995). De plus, la TTR est également impliquée dans le transport de la vitamine A (Darnerud, 2008), vitamine indispensable à la vision et à la croissance de plusieurs organes ainsi qu'à la synthèse de certaines hormones telle que la progestérone et dans les mécanismes immunitaires (Siavash et al., 2008).

Les PBDEs induisent également le métabolisme et la désactivation des hormones thyroïdiennes. En effet, le ComPentaBDE et le ComOctaBDE induisent une enzyme métabolique de phase II hépatique, l'uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransférase (UGT) (Carlson, 1980 ; Zhou et al., 2001). La conjugaison des hormones thyroïdiennes à cette enzyme sera donc augmentée, rendant celles-ci hydrophiles, elles seront alors excrétées dans la bile (Darnerud, 2008).

Les métabolites des PBDEs engendreraient l'inhibition d'une autre enzyme métabolique de phase II, une iodothyronine sulfotransférase. Schuur et al. (1998) ont mis en évidence l'inactivation de cette enzyme de sulfatation *in vitro* par les métabolites des PBDEs, il en résultait la formation de 3,3'-diiodothyronine non sulfatée donc inactive.

Les métabolites des PBDEs perturbent la liaison des hormones thyroïdiennes à leurs récepteurs en raison de leur ressemblance structurale. D'après Marsh et al. (1998), les hydroxy-BDEs synthétisés pourraient en effet se lier aux récepteurs TR- α 1 et TR- β . Selon le type de PBDE, ils pourraient mimer, augmenter ou diminuer l'action biologique des hormones thyroïdiennes en raison de leurs similarités structurales.

Pacyniak et al. (2007) ont montré que les PBDEs, notamment les BDE-47, BDE-99 et BDE-209, sont des inducteurs de cyp3a11 et cyp2b10. Si ces congénères ont une capacité similaire d'induction des gènes codant pour cyp3a11, ce n'est pas le cas pour cyp2b10 : le BDE-99 a la capacité la plus importante d'induction du gène codant pour cyp2b10, suivi du BDE-47 et du BDE-209 avec une efficacité moindre. De plus la capacité d'induction des cyp3a11 et 2b10 passerait en partie par l'activation du Récepteur de Pregnane (PXR), qui est un récepteur nucléaire aux xénobiotiques, lui même contrôlant l'induction d'autres cytochromes P450 (CYP450) (Pacyniak et al., 2007). Les PBDEs vont donc induire indirectement certains CYP450 qui vont les biotransformer en métabolites or le rôle des métabolites sur l'homéostasie des hormones thyroïdiennes a été évoqué précédemment.

Enfin, les PBDEs peuvent induire une hyperplasie de la glande thyroïde (Siddiqi et al., 2003).

Les PBDEs ou leurs métabolites perturbent la fonction thyroïdienne en induisant le métabolisme / désactivation des hormones thyroïdiennes, en perturbant le transport de celles-ci, en empêchant ces dernières de se fixer sur leurs récepteurs, en induisant des CYP450 qui vont permettre la biotransformation des PBDEs en de nombreux métabolites délétères ou en induisant une hyperplasie de la glande.

2.3. Toxicités hépatique et rénale

D'après van der Ven et al. (2008a) et Dunnick et Nyska (2009), le foie semble être un organe cible des PBDEs. Les PBDEs sont capables d'induire aussi bien des enzymes métaboliques hépatiques de phase I (CYP450) que de phase II (l'UGT) (Birnbbaum et Cohen Hubal, 2006 ; Sanders et al., 2005 ; Zhou et al., 2002).

Carlson a montré en 1980 que ce potentiel d'induction était inversement corrélé au degré de bromation du PBDE. Dans l'étude de Dunnick et Nyska (2009), l'administration de ComPentaBDE, qui est un mélange de PBDEs faiblement bromés, à des doses de 0,01 à 500 mg/kg pendant 13 semaines à de jeunes rats et souris adultes, a entraîné une augmentation du poids du foie, une augmentation des taux de CYP450 (1A1, 1A2, 2B) et d'UGT (seulement chez les rats). Des lésions hépatiques ont été observées chez ces deux espèces, il s'agit d'une hypertrophie hépatocellulaire (augmentation d'un facteur 3 de la taille de ces cellules) et une vacuolisation des hépatocytes (augmentation de la taille des hépatocytes avec l'apparition de petites vacuoles rondes dans le cytoplasme) (Dunnick et Nyska, 2009). La plupart des effets toxiques était observée chez les animaux traités aux fortes doses (100 et 500 mg/kg). Cependant, l'augmentation du poids du foie, qui est la variable la plus sensible de toxicité hépatique, a été mise en évidence chez les animaux traités dès la dose 5 mg/kg de pour les rats, dès la dose de 50 mg/kg pour les souris mâles et dès la dose de 100 mg/kg pour les souris femelles (Dunnick et Nyska, 2009). Les taux de CYP450 et d'UGT étaient augmentés chez les rats à partir de la dose de 50 mg/kg et chez les souris dès la dose de 100 mg/kg (taux de CYP450 uniquement). L'hypertrophie hépatocellulaire a été observée dès les doses de 5 et 0,01 mg/kg chez les rats mâles et femelles, respectivement, alors qu'elle a été observée dès les doses 5 et 100 mg/kg chez les souris mâles et femelles, respectivement (Dunnick et Nyska, 2009). La vacuolisation des hépatocytes a été mise en évidence uniquement chez les souris mâles traitées à la dose de 500 mg/kg. Peu de rats ont présenté ce type d'anomalie hépatique (Dunnick et Nyska, 2009).

Des rats exposés au ComPentaBDE pendant 28 jours ont présenté une induction des CYP450 (cyp1A et cyp2B) pour des doses comprises entre 0,3 et 4,5 mg/kg et une augmentation du poids de leur foie à partir de la dose 18 mg/kg (van der Ven et al., 2008a). Une exposition périnatale au ComPentaBDE a entraîné l'induction des CYP450 chez des rats traités dès la dose de 10 mg/kg et l'augmentation du poids du foie chez ceux traités à la dose de 30 mg/kg (Zhou et al., 2002).

Une hypertrophie hépatocellulaire et l'induction de l'UGT ont également été observées respectivement dans les études de van der Ven et al. (2008a) et Zhou et al. (2002).

Carlson (1980) avait également mis en évidence l'induction par le ComPentaBDE et le ComOctaBDE des enzymes métaboliques citées précédemment ainsi que l'augmentation de la détoxification de l'éthyl 4-nitrophényl phényl-phosphonothioate (EPN), de la deméthylation du p-nitroanisole, de la NADPH-cytochrome c réductase, de la benzo[a]pyrène hydroxylase et du poids du foie chez des rats mâles traités *p.o.* avec des doses de 0,1 mmol/kg/j.

Contrairement aux PBDEs faiblement bromés, le ComDecaBDE ne semble avoir qu'un faible potentiel inducteur des CYP450 et de l'UGT (Darnierud et al., 2001). En effet, Zhou et al. (2001) et Carlson (1980) avaient montré que l'exposition de rats au ComDecaBDE à des doses de 0,3 à 300 mg/kg, dans la première étude, ou à la dose de 0,1 mmol/kg, dans la deuxième étude, n'avait pas entraîné l'induction d'enzymes hépatiques. Pourtant, d'après van der Ven et al. (2008b), l'administration de ComDecaBDE à de jeunes rats adultes Wistar pendant 28 jours a entraîné chez ces animaux une augmentation de l'expression des cyp1A et cyp2B à partir de doses de 0,5 à 0,7 mg/kg. Dans l'étude de Tseng et al. (2008), l'augmentation de l'activité de l'enzyme hépatique ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD), chez les souris CD-1 mâles exposées au BDE-209 (decaBDE) pendant la gestation, est observée uniquement chez les animaux traités à la très forte dose de 1500 mg/kg et les niveaux d'UGT sont restés inchangés. Les poids du foie et des reins n'ont pas été augmentés mais une hypertrophie des hépatocytes a été observée chez les rats traités aux doses de 500 et 1500 mg/kg (Tseng et al., 2008).

Les études portant sur la toxicité hépatique et rénale induite *in vivo* par les PBDEs sont reportées dans le tableau 7.

Tableau 7 : Tableau récapitulatif des études portant sur la toxicité hépatique et rénale des PBDEs

Molécule	Dose (mg/kg)	Mode d'exposition	Age début du traitement	Espèce	Effets relevés
BDE-209	10, 500 et 1500	Administrations quotidiennes p.o. pendant 17 j GD 0 à GD 17	GD 0	Souris CD-1	- poids du foie inchangé - hypertrophie des hépatocytes (doses 500 et 1500) - augmentation de l'activité EROD (dose 1500) - aucun effet sur le taux de l'UGT
ComPentaBDE	5, 50, 100 et 500	Administrations quotidiennes p.o. pendant 13 semaines	5-6 semaines	Rats F344/N Souris B6C3F1	- augmentation du poids du foie - augmentation des taux de CYP450 - augmentation de l'UGT (rats) - hypertrophie et vacuolisation des hépatocytes - légère augmentation du poids des reins
ComPentaBDE	0,3 - 200	Administrations quotidiennes p.o. pendant 28 j	8 semaines	Rats Wistar	- augmentation du poids du foie (à partir des doses 17,1 et 18,3 chez femelles et mâles, respectivement) - augmentation des taux de CYP450 (0,3-4,5 mg/kg) - hypertrophie des hépatocytes
ComPentaBDE	1, 10 et 30	Administrations quotidiennes p.o. GD 6 à PND 21	GD 6	Rats Long-Evans	- induction CYP450 (doses 10 et 30) - augmentation du poids du foie (dose 30) - induction de l'UGT (dose 30)
ComPentaBDE ou ComOctaBDE	10, 100 et 1000	Administrations quotidiennes p.o. pendant 13 semaines (nourriture)	-	Rats	dégénérescence hyaline au niveau des reins (dose 10)
ComDecaBDE	0,5 et 0,7	Administrations quotidiennes p.o. pendant 28 j	11 semaines	Rats Wistar	induction des CYP450
ComDecaBDE	0,3, 1, 100, 300	Administrations quotidiennes p.o. pendant 4 j	28 jours	Rats Long-Evans	pas d'induction des enzymes hépatiques

Au niveau rénal, le ComOctaBDE et le ComPentaBDE, lorsqu'ils sont administrés à de fortes doses (10 mg/kg) pendant 13 semaines, semblent induire une dégénérescence hyaline (IPCS, 1994). Cette anomalie se caractérise par un remplacement progressif des tissus par une substance hyaline anormale, vitreuse et inerte : de la lécithine associée à une substance protéique. Il en résulte un syndrome néphrotique avec des oedèmes, un taux anormalement élevé de protéines dans l'urine et un taux sanguin d'albumine très bas. D'après van der Ven et al. (2008a), l'augmentation du poids des reins a été mise en évidence chez des rats après une exposition de 28 jours au ComPentaBDE, à des doses d'au moins 108,6 et 85,4 mg/kg (chez des mâles et femelles, respectivement).

D'après Dunnick et Nyska (2009), l'administration de ComPentaBDE à des doses de 0,01 à 500 mg/kg pendant 13 semaines à de jeunes rats adultes F344/N n'a pourtant entraîné qu'une petite augmentation du poids des reins. Il y a très peu d'études concernant la toxicité des PBDEs au niveau rénal.

Les PBDEs induisent une hypertrophie du foie associée à une altération des fonctions de cet organe. Ils entraînent l'induction d'enzymes métaboliques hépatiques de phase I et II, de manière inversement corrélée à leur degré de bromation. La néphrotoxicité engendrée par l'exposition aux mélanges ComOctaBDE et ComPentaBDE est variable d'une étude à l'autre mais les reins ne semblent pas être un organe cible des PBDEs.

2.4. Carcinogénicité

Peu d'études de carcinogénicité ont été réalisées et elles concernent essentiellement le ComDecaBDE.

Les PBDEs induiraient une augmentation des recombinaisons intragéniques dans des cellules de mammifères mais n'auraient cependant qu'un faible potentiel mutagène (Helleday et al., 1999). Ces molécules sont en effet négatives pour les tests de mutagenèse *in vitro* comme le test d'Ames, test réalisé sur des salmonelles, et le test sur lignées cellulaires de lymphomes de souris (IPCS, 1994). D'après Pijnenburg et al. (1995), les PBDEs n'induiraient ni d'aberrations chromosomiques ni d'échanges entre chromatides sœurs au sein de cellules de hamster chinois.

Les PBDEs n'en sont pas moins des carcinogènes puisqu'ils peuvent provoquer ou favoriser l'apparition de tumeurs. En effet, l'administration chronique orale pendant 2 ans de ComDecaBDE chez des rats à des doses estimées de 1 200 et 2 500 mg/kg/j a entraîné une augmentation dose-dépendante de l'incidence d'adénomes hépatiques et une augmentation de l'incidence d'adénomes pancréatiques concernant la plus forte dose (NTP, 1986). Chez les souris, il a été constaté une augmentation de l'incidence d'adénomes et de carcinomes hépatocellulaires pour des doses estimées de 3 500 et 7 000 mg/kg/j. Ces doses sont très supérieures à la dose limite à utiliser en étude de toxicité chronique selon les directives de l'Organisation de Coopération et de Développement Économiques (OCDE), surtout par rapport aux doses auxquelles sont exposés les êtres humains de façon chronique. L'incidence d'adénomes et de carcinomes au niveau des cellules folliculaires de la glande thyroïde a été légèrement augmentée (NTP, 1986). Dans une autre étude de carcinogénicité effectuée chez le rat, aucun effet n'a été observé après une administration de ComDecaBDE aux doses de 0,01, 0,1 et 1 mg/kg/j pendant 2 ans (Kociba et al., 1975).

Les études portant sur la carcinogénicité induite *in vivo* par les PBDEs sont reportées dans le tableau 8.

Tableau 8 : Tableau récapitulatif des études portant sur la cancérogénicité des PBDEs

Molécule	Dose (mg/kg)	Mode d'exposition	Age début du traitement	Espèce	Effets relevés
ComDecaBDE	1200 et 2500 (rats) ;	Administrations quotidiennes p.o. pendant 2 ans (nourriture)	-	Rats Rats F344/N	- augmentation incidence adénomes hépatiques et pancréatiques (rat)
	3500 et 7000 (souris)			Souris B6C3F1	- augmentation incidence adénomes et carcinomes de la thyroïde (souris)
ComDecaBDE	0,01, 0,1 et 1	Administrations quotidiennes p.o pendant 2 ans	-	Rats	Aucun effet observé

He et al. (2008), dans des études *in vitro* sur des cellules de neuroblastome humain, ont mis en évidence les propriétés cytotoxiques et génotoxiques du BDE-47 à partir de concentrations supérieures à 4 µg/ml. En effet, après 24 heures d'incubation avec le BDE-47 à ces concentrations, la viabilité des cellules était fortement diminuée avec une augmentation de l'apoptose. De plus, des lésions dans l'acide désoxyribonucléique (ADN), pouvant conduire à des mutations, sont apparues. D'après Gao et al. (2009), l'incubation de cellules de neuroblastome humain avec du BDE-47 à des concentrations de 5 ou 10 µM ont induit un stress oxydatif et donc une augmentation du taux d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui est à l'origine de dommages de l'ADN au sein de ces cellules. L'incubation concomitante du BDE-47 et du PCB-153 a entraîné une augmentation de ces dommages de l'ADN ce qui laisse penser que le PCB-153 potentialiserait les effets du BDE-47 (Gao et al., 2009).

Le potentiel toxique des PBDEs serait en partie dû à leur fixation à un récepteur cytoplasmique Aryl hydrocarbures (Ah) qui va alors s'hétérodimériser et se lier à un cofacteur pour jouer son rôle de facteur de transcription dans le noyau et activer des gènes cibles (Desaulniers et al., 2003). Parmi les gènes activés par les récepteurs Ah, on trouve des CYP450 mais aussi des gènes impliqués dans le cycle cellulaire, fournissant une explication plausible du rôle de certains PBDEs dans la promotion de cancers. Les agonistes des récepteurs Ah affecteraient aussi les systèmes immunitaire, nerveux, endocrinien et reproducteur (Desaulniers et al., 2003). Les pentaBDEs, contrairement aux tétraBDEs, auraient une forte affinité pour le récepteur Ah (Siddiqi et al., 2003).

La carcinogénicité des PBBs, qui sont des molécules analogues aux PBDEs, a été démontrée chez des rats (Kimbrough et al., 1981) et des souris (Chhabra et al., 1993 ; Gupta et al., 1983). Les PBBs seraient des promoteurs de tumeurs en inhibant la communication entre les cellules (Kavanagh et al., 1987 ; Tsushimoto et al., 1982) mais sans induire de mutations (Kavanagh et al., 1985).

Des études ont mis en évidence la carcinogénicité des PBDEs mais elles concernent principalement le ComDecaBDE qui est le mélange commercial le moins toxique. La carcinogénicité du ComPentaBDE et du ComOctaBDE n'a pas été évaluée. De plus, ces études ne sont pas nombreuses ni récentes, les doses utilisées sont très élevées et donc bien éloignées de celles auxquelles l'Homme est réellement exposé.

2.5. Perturbations de la reproduction

Le ComPentaBDE serait responsable d'un retard de la puberté et d'une inhibition de la croissance des tissus androgéno-dépendants (vésicules séminales et prostate) chez des rats mâles après 30 jours d'exposition péripubertaire aux doses de 30 et 60 mg/kg (Stoker et al., 2004). Ces auteurs suggèrent que le ComPentaBDE pourrait déclencher le métabolisme des hormones stéroïdiennes ou agirait comme un antagoniste du récepteur des androgènes (RA). D'après Mercado-Feliciano et al. (2008), le ComPentaBDE se comporterait comme un œstrogène faible, c'est-à-dire qu'il pourrait se fixer sur les récepteurs cellulaires aux œstrogènes et avoir un effet œstrogénique, effet tout de même moins puissant que l'œstradiol. Mercado-Feliciano et al. (2008) ont également montré que les souris de souche BALB/c étaient plus sensibles au ComPentaBDE que les souris de souche C57BL/6 et que selon la durée des traitements, ce produit pouvait se comporter comme un agoniste ou un antagoniste du récepteur aux œstrogènes. En effet, le ComPentaBDE administré seul à des souris pendant 3 jours, à des doses comprises entre 75 et 300 mg/kg, n'a eu aucun effet œstrogénique alors que lorsqu'il était administré à ces mêmes souris pendant 34 jours, à des doses de 75 mg/kg, il a entraîné une hypertrophie de l'épithélium utérin et une hyperplasie de l'épithélium vaginal. De plus, quand le ComPentaBDE est administré avec du β -estradiol-3-benzoate (EB) à des souris pendant 3 jours, à des doses comprises entre 75 et 300 mg/kg, il potentialiserait les effets des œstrogènes en induisant une augmentation du poids de l'utérus alors qu'il se comporterait comme un anti-œstrogène au contraire lorsqu'il est co-administré avec de l'EB pendant 34 jours en atténuant l'hypertrophie utérine. L'activité œstrogénique ou anti-œstrogénique du ComPentaBDE dépendrait de la durée du traitement, du type de congénères qui le compose et du type de métabolites hydroxylés obtenus.

L'administration prénatale de BDE-209, de GD 6 à GD 18, à la dose de 5 mg/kg à des rats Sprague-Dawley a entraîné chez les femelles, 42 jours après la naissance, une diminution de la concentration en œstradiol dans le sérum alors que la concentration en testostérone chez les jeunes mâles est restée inchangée (Kim et al., 2009). Une diminution de la concentration en œstradiol dans le sérum avait également été observée chez des rats femelles Wistar après une exposition périnatale au BDE-47 à la dose de 700 μ g/kg de BDE-47 en plus d'une diminution du poids de leurs ovaires 38 jours après la naissance dès la

dose de 140 µg/kg ainsi qu'une altération de la folliculogénèse se caractérisant par une diminution du nombre de follicules tertiaires à partir de la dose de 700 µg/kg (Talsness et al., 2008). Par contre, l'accouplement de ces femelles exposées pendant la période périnatale avec des mâles non traités n'a présenté aucune perturbation des indices de reproduction (Talsness et al., 2008).

Selon Branchi et al. (2002), l'administration de BDE-99 à la dose de 6 mg/kg par voie orale chez des souris gestantes à partir du 6^{ème} jour de gestation a induit une réduction du nombre de nouveaux-nés. D'après Lilienthal et al. (2006), le BDE-99 administré par injection sous-cutanée (s.c.) (1 ou 10 mg/kg) à des rates gestantes, de GD 10 à GD 18, a induit chez les petits une fois adulte, une baisse de la concentration d'hormones sexuelles circulantes ainsi qu'une diminution de la distance ano-génitale et une augmentation de la préférence sucrée, qui sont des indices de féminisation, chez les mâles. Chez les femelles, il a été mis en évidence une diminution du nombre de follicules ovariens (Lilienthal et al., 2006). D'après Kuriyama et al. (2005), l'administration unique de BDE-99 à de faibles doses (0.06 mg/kg) au 6^{ème} jour de gestation a induit chez les mâles de la descendance une taille réduite des testicules et une diminution du nombre des spermatozoïdes. Chez les femelles, l'administration de BDE-99 dans les mêmes conditions a entraîné des modifications structurales des ovaires mais un nombre de follicules ovariens inchangé (Talsness et al., 2005). Ces études ont montré que ces effets étaient détectés à l'âge adulte et persistaient dans le temps.

Les études portant sur les perturbations de la reproduction induite *in vivo* par les PBDEs sont reportées dans le tableau 9.

Tableau 9 : Tableau récapitulatif des études portant sur les perturbations de la reproduction des PBDEs

Molécule	Dose (mg/kg)	Mode d'exposition	Age début du traitement	Espèce	Effets relevés
BDE-47	0,14 et 0,7	Administrations quotidiennes <i>p.o.</i> GD 6 à PND 21	GD 6	Rats Wistar	- diminution de la concentration en œstradiol chez les femelles à PND 38 (dose 0,7) - diminution du poids des ovaires à PND 38 (dose 0,14) - diminution du nombre de follicules tertiaires (dose 0,7)
BDE-99	1 et 10	Injections quotidiennes s.c. GD 10 à GD 18	GD 10	Rats Long-Evans	- diminution de la concentration en hormones sexuelles à l'âge adulte - féminisation des mâles - diminution du nombre de follicules ovariens chez les femelles
BDE-99	0,06 et 0,3	Dose unique <i>p.o.</i>	GD 6	Rats Wistar	- diminution de la taille des testicules et du nombre de spermatozoïdes chez les mâles - modifications structurales des ovaires mais nombre de follicule inchangé chez les femelles
BDE-99	0,6, 6 et 30	Administrations quotidiennes <i>p.o.</i> GD 6 à PND 21	GD 6	Souris CD-1	diminution du nombre de petits à la naissance (dose 6)
BDE-209	5, 40 et 320	Administrations quotidiennes <i>p.o.</i> GD 6 à GD 18	GD 6	Rats Sprague-Dawley	- diminution de la concentration en œstradiol chez les femelles à PND 42 (dose 5) - concentration en testostérone inchangée chez les mâles (dose 5)
ComPentaBDE	30 et 60	Administrations quotidiennes <i>p.o.</i> pendant 30 j	PND 23	Rats Wistar	- retard de la puberté - inhibition de croissance de la prostate et des vésicules séminales
ComPentaBDE	75, 150 et 300	Administrations quotidiennes <i>p.o.</i> pendant 3 ou 34 j	9-11 semaines	Souris BALB/c et C57BL/6	- souche BALB/c plus sensible - effet œstrogénique seulement quand traitement de 34 jours - il potentialise les effets des œstrogènes quand co-administration pendant 3 jours - il se comporte comme un antagoniste de l'œstrogène quand co-administration pendant 34 jours

Différentes études *in vitro* ont prouvé que les PBDEs avaient une affinité pour les RA (Cantón et al., 2007 ; Hamers et al., 2006 ; Kitamura et al., 2005 ; Meerts et al., 2001) et Hamers et al. (2006) ont montré que ces molécules, en particulier les BDE-19 et BDE-10, étaient des antagonistes des RA. Parmi les constituants du ComPentaBDE, le BDE-47 et le BDE-100, mais pas le BDE-99, inhiberaient l'activation transcriptionnelle du RA induite par la dihydrotestostérone (dérivé de la testostérone) (Lilienthal et al., 2006). L'antagonisme pour les RA de plusieurs métabolites hydroxylés a également été mis en évidence dans une levure (Cantón et al., 2007).

D'après Meerts et al. (2001), plusieurs PBDEs (PBDEs faiblement bromés jusqu'aux hexa-BDE) et surtout leurs métabolites sont des agonistes des récepteurs aux œstrogènes α et β . Les PBDEs ayant la plus forte activité œstrogénique sont les BDE-100, BDE-75 et BDE-51 or le BDE-100 fait partie des PBDEs les plus retrouvés chez l'Homme et chez les

mammifères (Sjödin et al., 1999). D'autres PBDEs, à l'inverse, sont des antagonistes des récepteurs aux œstrogènes, c'est le cas des BDE-153, BDE-66 et BDE-190. Selon Meerts et al. (2001), l'activité œstrogénique des PBDEs serait liée à la localisation des atomes de brome sur les cycles.

Les PBDEs, administrés chez la femelle gestante, ont induit une réduction du nombre des nouveaux-nés ainsi qu'une féminisation des mâles et des modifications structurales des ovaires chez les femelles. Ces perturbations, détectées à l'âge adulte et persistantes dans le temps, sont liées à l'affinité des PBDEs pour les récepteurs aux androgènes et pour les récepteurs aux œstrogènes pour lesquels, selon le type de PBDE, ils sont des agonistes ou des antagonistes.

2.6. Immunotoxicité

Chez la souris, une suppression de la réponse anti-SRBC (Sheep Red Blood Cells ou globules rouges de mouton) et une diminution du poids du thymus ont été observées après une exposition à une dose de 1000 mg/kg/j de ComPentaBDE pendant 14 jours (Fowles et al., 1994). Dans cette étude, ces effets n'ont pas été observés chez les souris exposées à des doses inférieures. D'après Thuvander et Darnerud (1999), l'administration orale journalière de BDE-47 à la dose de 36 mg/kg à des souris pendant 14 jours a induit une forte diminution du nombre de splénocytes. Le ComPentaBDE a entraîné une diminution de la production d'anticorps de type immunoglobulines (Ig) G par les splénocytes de souris en culture stimulés au pokeweed *ex vivo* (Thuvander et Darnerud, 1999). D'après ces mêmes auteurs, aucun effet immunologique n'a été observé chez des rats. Pourtant dans l'étude réalisée par Zhou et al. (2006), des rats exposés à de fortes doses de BDE-209 au cours de la gestation et pendant l'allaitement, présentaient des taux d'IgG similaires aux rats témoins alors que leurs taux d'IgM étaient significativement plus bas. L'exposition au BDE-209 a également entraîné une diminution du pourcentage de lymphocytes T portant les marqueurs CD3, CD4, CD8, une diminution du pourcentage des cellules Natural Killer portant le marqueur CD161 ainsi qu'une augmentation du pourcentage de cellules ne portant pas les marqueurs CD4 et CD8. Dans cette étude, la prolifération des sous-ensembles de lymphocytes T est restée inchangée mais l'administration de ce BDE-209 a engendré une atrophie du thymus et un appauvrissement de la rate chez ces rats. Beineke et al. (2005) l'avaient également constaté chez des marsouins échoués ou capturés dans différentes mers du globe contaminées par les PBDEs telles que la mer du Nord ou la mer Baltique. Ces animaux qui présentaient une immunosuppression étaient plus vulnérables aux infections bactériennes et à d'autres maladies. En 2007, Beineke et al. ont montré que les thymus

atrophisés des marsouins étaient appauvris en thymocytes corticaux immatures et en cellules B médullaires, résultant peut-être d'une altération de la thymopoïèse due aux PBDEs. Ils ont également mis en évidence un appauvrissement de la pulpe blanche de la rate par la perte de lymphocytes T périphériques qui est peut-être la conséquence d'altérations de la réponse immunitaire à médiation cellulaire (Beineke et al., 2007). Frouin et al. (2010) ont montré que l'exposition de granulocytes de phoque *in vitro* avec du BDE-47, du BDE-99 ou du BDE-153, à la dose de 12 μ M, a entraîné une accumulation des ERO au sein des granulocytes, une diminution de leur capacité de phagocytose ainsi qu'une diminution des niveaux en thiols à l'intérieur de ces cellules. Or, les protéines à groupements thiols constituent des substances antioxydantes.

Des effets d'immunomodulation ont été mis en évidence par Fernie et al. (2005) chez de jeunes crécelles qui avaient reçu une injection dans l'œuf d'un mélange de PBDEs (BDE-47, BDE-99, BDE-100 et BDE-153) correspondant à une quantité de 18,7 μ g de PBDE par oeuf puis des administrations orales aux oisillons à la dose de 15,6 μ g/kg pendant 29 jours après l'éclosion des œufs. Ces animaux traités présentaient une réaction plus importante à la phytohémagglutinine (immunité à médiation cellulaire mettant en jeu des lymphocytes T) et une réponse immunitaire humorale réduite. Des changements structuraux au niveau de la rate (diminution des centres germinatifs), de la bourse de Fabricius (apoptose réduite) et du thymus (accroissement du nombre de macrophages) ont été observés.

D'après Lundgren et al. (2009), l'administration de BDE-99 ou de ComPentaBDE par voie orale et à la dose unique de 20 mg/kg chez des souris adultes a induit une diminution, voire même une déplétion, des taux de l'interleukine-13, de macrophage inflammatory protein-1beta, de chimiokine régulée par activation, exprimé et secrété par les cellules T normales, des interférons-gamma et des chimiokines dérivées des kératinocytes.

Les études portant sur l'immunotoxicité induite *in vivo* par les PBDE sont reportées dans le tableau 10.

Tableau 10 : Tableau récapitulatif des études portant sur l'immunotoxicité des PBDEs

Molécule	Dose (mg/kg)	Mode d'exposition	Age début du traitement	Espèce	Effets relevés
BDE-209	Fortes doses	Administrations quotidiennes <i>p.o.</i>	Pendant la gestation et la lactation	Rats Wistar	- diminution du taux d'IgM - diminution du pourcentage de lymphocytes T portant les marqueurs CD3, CD4, CD8 - diminution du pourcentage des cellules NK portant le marqueur CD161 - augmentation du pourcentage de cellules ne portant pas les marqueurs CD4 et CD8 - atrophie du thymus et appauvrissement de la rate
BDE-47	18 et 36	Administrations quotidiennes <i>p.o.</i> pendant 14 j	-	Rats et souris	- diminution du nombre de splénocytes (dose 36) - aucun effet observé chez les rats
BDE-99 ou ComPentaBDE	20	Dose unique <i>p.o.</i>	adulte	Souris Balb/c	- déplétion des taux de MIP-1beta, IL-13, RANTES, IFN-gamma et KC
ComPentaBDE	0,8, 4,0 250, 500 et 1 000	Administrations quotidiennes <i>p.o.</i> pendant 14 j	-	Souris C57BL/6J	- suppression de la réponse anti-SRBC - diminution du poids du thymus - aucun effet aux doses < 1000 mg/kg

Abréviations : NK, Natural Killer ; IL, Interleukine ; MIP, Macrophage Inflammatory Protein ; RANTES, chimiokine régulée par activation, exprimé et sécrété par les cellules T normales ; IFN, interférons ; KC, Chimiokines dérivées des Kératinocytes.

L'immunotoxicité induite par les PBDEs passe par une atrophie et des changements structuraux des organes impliqués dans l'immunité (thymus, rate, et bourse de Fabricius). Il en résulte également une diminution du pourcentage de lymphocytes portant des marqueurs spécifiques ainsi qu'une diminution de la production de certaines cytokines et immunoglobulines.

2.7. Autres perturbations

D'après Brown et al. (1979), l'exposition aux PBBs, molécules analogues aux PBDEs, entraîne de la fatigue, une augmentation de la durée du sommeil, une diminution des capacités de travail, une diminution du poids corporel et de l'appétit, des douleurs abdominales, des diarrhées, des maux de tête, des vertiges et de l'irritabilité. Par contre, l'administration de ComDecaBDE chez des rats Sprague-Dawley aux doses de 0,01, 0,1 et 1 mg/kg/j pendant 2 ans n'a pas eu d'influence sur le taux de survie des animaux, sur leur poids corporel, sur leurs prises alimentaire et hydrique, ni sur le poids de leurs organes (Kociba et al., 1975). Fernie et al. (2006), quant à eux, ont montré que l'injection au 19^{ème} jour d'incubation d'un mélange de PBDEs (BDE-47, BDE-99, BDE-100 et BDE-153) correspondant à une quantité de 18,7 µg de PBDEs par oeuf suivie d'administrations orales chez les oisillons à la dose de 15,6 µg/kg pendant 29 jours après l'éclosion des œufs ont induit un gain de poids plus rapide et une consommation alimentaire plus importante chez ces animaux traités par rapport aux animaux qui recevaient le véhicule. Les animaux traités

avec les PBDEs avaient un poids corporel plus important ainsi que des os et des plumes plus volumineux. Il a été suggéré que la taille plus importante des oiseaux exposés aux PBDEs ait un effet néfaste sur leur structure osseuse et qu'elle entraîne des coûts énergétiques excessifs (Fernie et al., 2006).

IV. Micropolluants et maladies neurodégénératives

Le simple vieillissement de la population ne suffit pas à expliquer l'augmentation du nombre de maladies neurodégénératives qui a terriblement marqué la dernière décennie. Divers produits toxiques environnementaux, appelés micropolluants, émis par les activités humaines vers l'atmosphère sont retrouvés dans l'air ambiant, l'eau, le sol ou dans les matrices alimentaires et contribueraient à l'étiologie des pathologies neurodégénératives (Wright et Kellers-Byrne, 2005).

1. Les maladies neurodégénératives

Les maladies neurodégénératives sont parmi les affections les plus fréquentes du système nerveux central. Ce sont souvent des maladies graves dont la progression peut parfois être freinée mais qu'on ne sait guérir. Ces maladies entraînent une dégénérescence progressive d'une partie ou de la totalité du système nerveux au niveau du cerveau et/ou de la moelle épinière (Ibanez, 2005). Selon la région touchée, les troubles pourront affecter la motricité, le langage, la mémoire, la perception ou la cognition. Cependant, les mécanismes cellulaires et moléculaires restent encore mal compris (Ibanez, 2005).

La maladie d'Alzheimer (MA) et la maladie de Parkinson (MP) sont les plus fréquentes des maladies neurodégénératives.

1.1. La maladie d'Alzheimer

La MA a été décrite pour la première fois en 1907 par le neuropathologiste allemand Aloïs Alzheimer (1864-1915). La MA est la plus fréquente des démences neurodégénératives, touchant 850 000 personnes de plus de 65 ans en France avec, chaque année, 165 000 nouveaux cas et une prévision de 1,2 millions de personnes touchées en 2020 (<http://www.francealzheimer.org>).

Deux types de liaisons cérébrales localisées au niveau de la substance grise sont mis en évidence dans le tissu cérébral d'une personne atteinte de MA : des agrégats de substance organique formant des plaques, dites amyloïdes et constitués de peptides nommés A β , à l'extérieur des neurones et la dégénérescence des neurones eux-mêmes, envahis de l'intérieur par des fibrilles microscopiques de protéines Tau, phénomène appelé la dégénérescence neurofibrillaire (Delacourte, 2003). Du point de vue neurochimique, les

neurones cholinergiques sont précocement touchés dans la MA. D'après Bowen et al. (1983), la densité des récepteurs muscariniques ne serait pas modifiée alors que Reinikainen et al. (1987) indiquent une baisse de la densité de ces récepteurs dans le cortex et l'hippocampe des patients atteints de la MA. Une diminution modérée du nombre de récepteurs cholinergiques de type nicotinique a également été observée par Araujo et al. (1988). D'autres systèmes de neuromédiation tels que le système sérotoninergique et le système noradrénergique seraient touchés dans la MA (Touchon et Portet, 2002). Un déficit important du système somatostatinergerique a également été mis en évidence par Epelbaum et al. (1994).

1.2. La maladie de Parkinson

En 1817, James Parkinson (1755-1824), médecin, géologue, paléontologue et activiste politique anglais fut le premier à décrire les symptômes de cette maladie qu'il avait nommé paralysie tremblante et qui fut rebaptisée par la suite « maladie de Parkinson » par Jean-Baptiste Charcot (Agid et al., 1987). La MP touche 1.6 % de la population après 65 ans, soit 100 000 personnes en France avec 8 000 nouveaux cas par an. C'est la deuxième maladie neurodégénérative après la MA (Chrysostome et Tison, 2006). Cette maladie se caractérise principalement par la mort des neurones dopaminergiques au niveau du locus niger et du striatum. D'autres systèmes dopaminergiques peuvent être lésés, avec une sévérité moindre cependant, ainsi que des systèmes non dopaminergiques tels que les systèmes noradrénergiques, cholinergiques et sérotoninergiques. Des pertes neuronales n'ont pas été clairement démontrées au niveau du cortex mais la présence de corps de Lewy, qui sont des inclusions neuronales intracytoplasmiques, ou de dégénérescences neurofibrillaires, indiqueraient une neurodégénérescence dans cette zone (Derkinderen et Damier, 2006).

2. Implication des polluants environnementaux, dont les PBDEs, dans la maladie d'Alzheimer et dans la maladie de Parkinson

Les causes exactes de la MA sont encore inconnues mais des facteurs environnementaux, tels que les pesticides (Gauthier et al., 2001) ou les métaux lourds dont le mercure (Mutter, 2007) présent dans les amalgames dentaires, l'aluminium, le cuivre et le zinc (Campbell, 2006) seraient impliqués dans la MA en induisant ou en potentialisant des processus inflammatoires dans le cerveau des personnes âgées. Les PBDEs, qui sont des retardateurs de flamme bromés, sont connus pour être neurotoxiques et altéreraient les fonctions cholinergiques notamment en induisant une diminution du nombre des récepteurs nicotiques et muscariniques dans l'hippocampe (Viberg et al., 2004, 2005), phénomènes qui sont retrouvés dans la MA.

Des pesticides aujourd'hui interdits en Europe tels que le dieldrin, le paraquat et le maneb altèreraient le système dopaminergique qui est le système principalement touché dans la MP (Richardson et al., 2006 ; Thiruchelvam et al., 2002). D'autres polluants organiques dits persistants tels que les PCBs (substances retrouvées dans les déchets d'anciennes productions industrielles comme les plastifiants) ou des retardateurs de flamme tels que le TBBPA, l'HBCD ou les PBDEs seraient impliqués dans la MP idiopatique en induisant un stress oxydatif à l'origine de la mort des neurones dopaminergiques (Lee et Opanashuk, 2004), en diminuant l'expression des transporteurs de la dopamine (Caudle et al., 2006) ou en inhibant les systèmes de recapture de la dopamine comme l'ont démontré Mariussen et Fonnum (2003) dans une étude *in vitro*. En effet, Mariussen et Fonnum (2003) ont montré que le ComPentaBDE, avec une Cl_{50} de 8 μ M, inhibait fortement la recapture vésiculaire de la dopamine mais faiblement la recapture de celle-ci dans le neurone dopaminergique présynaptique. Il en résulte l'accumulation de ce neurotransmetteur dans le cytoplasme du neurone dopaminergique. Or, la dopamine libre dans ce compartiment est oxydée ce qui conduit indirectement à l'augmentation des dommages oxydatifs au sein du neurone dopaminergique et donc à la mort de ce neurone. D'après Eriksson et al. (2001) et Viberg et al. (2004, 2005), les PBDEs sont connus pour être neurotoxiques et altèreraient les fonctions cholinergiques notamment en induisant une diminution des récepteurs nicotiniques et muscariniques dans l'hippocampe, phénomènes également retrouvés dans la MP.

V Conclusion

En raison de leurs propriétés ignifuges, les RFBs, dont les PBDEs, ont permis de sauver un grand nombre de vies ainsi que des biens. Ils ont été massivement utilisés ces vingt dernières années car ils avaient l'avantage d'être très efficaces et peu onéreux. Les PBDEs sont aujourd'hui retrouvés dans tous les compartiments biotiques et abiotiques où ils vont s'accumuler de part leurs propriétés lipophiles et leur persistance. L'Homme est exposé quotidiennement aux PBDEs par le biais de l'alimentation ou par l'ingestion et/ou l'inhalation de poussières ménagères ou industrielles. Les plus exposés sont les nouveau-nés, par le biais du lait maternel contaminé, et les jeunes enfants, jouant souvent au ras du sol où la poussière s'accumule ou portant fréquemment des objets poussiéreux à la bouche. Ces molécules pourraient poser un réel problème de santé publique d'autant plus que leurs structures chimiques sont similaires à celles d'autres polluants organiques persistants reconnus toxiques tels que les PCBs ou les dioxines. De nombreuses études chez les rongeurs ont mis en évidence la neurotoxicité induite par les PBDEs ainsi que des perturbations de la fonction thyroïdienne, hépatique, ou reproductrice engendrées par

l'exposition à ces molécules. Toutefois, les doses de PBDE administrées chez ces animaux étaient très élevées, de l'ordre de quelques milligrammes à plusieurs centaines de milligrammes par kg alors que les niveaux d'exposition humaine sont 1 000 à 10 000 fois plus faibles. De plus, les PBDEs sont très souvent administrés en dose unique dans les études existantes, exposition qui ne reflète pas la pollution à laquelle l'Homme est exposé. Il n'y a pas d'information disponible à l'heure actuelle sur les conséquences d'une exposition de longue durée aux PBDEs à des doses réalistes.

Pour se rendre compte de l'impact réel que peuvent avoir ces molécules chez l'Homme et au vu des données bibliographiques existantes, il apparaît donc nécessaire d'étudier les effets des PBDEs

- lors d'une exposition chronique,
- à des doses faibles s'apparentant à des doses environnementales réalistes de PBDEs,
- chez le rat adulte et chez le jeune rat à différents stades du développement : jeune âgé de 8 jours ou jeune à peine sevré,
- administrés par le biais d'une matrice naturellement contaminée en PBDE comme le lait.

Pour tenter de répondre à ces interrogations, nous avons choisi d'étudier les effets neurocomportementaux et physiologiques du BDE-99 en particulier, car c'est l'un des PBDEs les plus toxiques, bioaccumulables et persistants, administré à de faibles doses pendant 90 jours chez le rat mâle Sprague-Dawley adulte au début des traitements puis chez le jeune à peine sevré et chez le jeune âgé de 8 jours au commencement de l'étude, ces derniers dont l'organisme semble être plus sensible que celui des animaux adultes. Les effets d'une exposition chronique à une matrice naturellement contaminée en PBDEs n'ont pas encore été évalués.

Ces polluants pourraient jouer un rôle dans la survenue de pathologies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer ou la maladie de Parkinson. Ces études pourraient permettre l'obtention d'un modèle animal de pathologies neurodégénératives induit par l'administration de ces polluants et dont les mécanismes seraient les mêmes que ceux observés chez l'Homme, modèle qui permettrait de tester des molécules d'intérêt thérapeutique en prévention et/ou en traitement de ces pathologies.

Les méthodologies employées, les résultats obtenus et les conclusions que nous en avons tirées sont détaillés dans ce mémoire. Ce travail a conduit à l'écriture d'une publication qui est incorporée à la fin du manuscrit. Deux autres publications sont en cours de rédaction.

Matériels et méthodes

I. Animaux

Les études présentées dans ce travail ont été réalisées sur des rats mâles de souche Sprague-Dawley provenant du centre d'élevage HARLAN (Harlan France, Gannat, France). Le choix de cette souche a été motivé par le fait qu'elle est fréquemment utilisée au sein du centre de recherche ETAP, qu'elle a une très bonne capacité d'apprentissage, caractéristique indispensable pour la réalisation de tests comportementaux mais aussi par le fait qu'elle est plus sensible aux polluants organiques persistants tels que les dioxines, molécules ayant une structure chimique proche de celle des PBDEs, comparé à d'autres souches (Franc et al., 2001 ; Harker et Whishaw, 2002). Les rats étaient âgés de 2 mois, 24 jours ou 8 jours lors du premier jour de traitement selon l'étude.

L'animalerie possède l'autorisation du Ministère de l'Agriculture et de la Recherche (Agrément No. A 54-547-1, date de validité : 2015) et les animaux utilisés dans ces études ont été traités conformément aux règles éthiques édictées par l'Association for the Study of Animal Behaviour (2006), le Conseil Canadien de Protection des Animaux (2003) et les Recommandations de la Communauté Economique Européenne (2010) (directive 2010/63/UE).

II. Conditions de stabulation

Dès leur arrivée au laboratoire, les animaux ont été placés par groupe de 2 ou 3, dans le cas des études chez l'adulte ou chez le jeune sevré, ou maintenus avec leur mère dans le cas des études de développement, dans des cages en polycarbonate de type F (43 x 28x 15 cm, U.A.R., 91 - Epinay-Sur-Orge, France). Ils ont été stabulés dans une animalerie climatisée, à une température de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ et une humidité relative de $50 \pm 10 \%$ et ont été soumis à un cycle lumière-obscurité inversé de 12 heures (lumière de 21 h à 9 h). Tous les tests comportementaux ont été réalisés pendant la phase nocturne correspondant à la période d'activité des animaux. Ceux-ci ont disposé d'un régime standard 2016 (Harlan, tekla US, Madison, Etats-Unis) et d'eau fournis *ad libitum* et ont été pesés et répartis en 4 groupes en fonction des traitements:

- Groupe 1 : traitement quotidien avec l'huile de maïs pendant 90 jours (Témoin) ;
- Groupe 2 : traitement quotidien avec le BDE-99 à la dose de $0,15 \mu\text{g/kg/jour}$ pendant 90 jours (BDE 0.15) ;
- Groupe 3 : traitement quotidien avec le BDE-99 à la dose de $1,5 \mu\text{g/kg/jour}$ pendant 90 jours (BDE 1.5) ;
- Groupe 4 : traitement quotidien avec le BDE-99 à la dose de $15 \mu\text{g/kg/jour}$ pendant 90 jours (BDE 15).

La répartition des animaux dans les quatre groupes a été effectuée sur la base de leurs poids, et de leurs performances lors des premiers tests comportementaux lorsque ces derniers ont eu lieu avant la période de traitement comme cela a été le cas pour l'étude réalisée chez les animaux adultes.

Afin d'éviter les interférences éventuelles entre les divers produits, les rats d'une même cage ont tous reçu le même traitement. Les rats des différents groupes ont été manipulés de la même façon et dans les mêmes conditions.

III. Polluant et traitements

1. Préparation des solutions

Le BDE-99 a été synthétisé par le laboratoire Wallenberg de l'Université de Stockholm en Suède (Marsh et al., 1999 ; Orn et al., 1996) et a été conservé selon les recommandations données à l'abri de la lumière. Sa pureté était supérieure à 98 %.

Le BDE-99 se présentait sous forme de petits cristaux qui ont été pesés et mis en présence d'huile de maïs (Amphora, France). La solution a été placée dans un sonicateur pour une durée de 45 minutes afin de dissoudre complètement les cristaux et d'homogénéiser la solution. A partir de cette solution mère à la plus forte concentration, ont été préparées les deux autres solutions de concentration inférieure. Les solutions hydrophobes de BDE-99 ont été préparées une fois par mois aux concentrations de 30, 300 et 3000 ng/ml et conservées à température ambiante.

2. Administration des traitements

Les traitements ont été administrés par voie orale (gavage) aux doses de 0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j pendant 90 jours avec un volume d'administration de 5 ml/kg. Les rats Témoins ont reçu de l'huile de maïs avec le même volume d'administration et durant la même période. En raison de la nécessité d'administrer des doses exactes de produit, les animaux étaient traités par gavage. Pour cela, les sondes de gavage utilisées étaient munies d'une pointe à bille (Poppers and Sons, Inc, New-York, USA) afin d'éviter de blesser l'animal et d'introduire la sonde dans la trachée. Des sondes de différentes tailles ont été utilisées pour administrer les traitements en fonction de l'âge des rats.

Le port de gants et de lunettes était recommandé pour l'utilisation du BDE-99 en raison de la toxicité de ce produit.

3. Période d'exposition

L'impact d'une exposition de longue durée à des doses réalistes de BDE-99 a été évalué chez des rats de différents âges. Une étude chez le rat adulte a d'abord été réalisée car aucune étude n'avait été effectuée à l'époque chez l'organisme adulte. Deux études ont été réalisées chez le jeune dont l'organisme semblait être plus sensible à l'exposition aux polluants organiques (Rice et Barone, 2000 ; Selevan et al., 2000). Dans les deux études, les animaux ont été traités en période post-natale puisque la maturation cérébrale du rat a lieu après la naissance et puis cela permet de s'affranchir du rôle de l'organisme maternel (Rice et Barone, 2000). Une étude a été réalisée chez le rat âgé de 8 jours, âge correspondant à la période critique de développement rapide du cerveau qui est la phase précoce de maturation cérébrale et donc la phase au cours de laquelle les animaux seraient les plus vulnérables aux polluants (Rice et Barone, 2000 ; Selevan et al., 2000). En effet, des altérations neurocomportementales avaient souvent été observées chez des rats traités à cet âge (Viberg et al., 2004, 2005 ; Eriksson et al., 2001, 2002, 2006). L'autre étude chez le jeune a été effectuée après le sevrage des animaux, au moment de la phase tardive de maturation cérébrale chez le rat. Les mécanismes de différenciation et synaptogenèse, de gliogenèse et de myélinisation ne sont en effet pas encore terminés au moment du sevrage (Rice et Barone, 2000).

Dans l'étude réalisée chez le rat adulte comme dans l'étude réalisée chez le jeune sevré, le nombre d'animaux par groupe au départ était de 8. Dans l'étude réalisée chez le jeune traité à partir de l'âge de 8 jours, douze femelles allaitantes avec leur portée de ratons âgés de 5 jours étaient arrivées au laboratoire. La taille des portées a été ajustée à 8, 48 heures après leur arrivée, en euthanasiant les petits restants. Les portées contenaient des ratons des deux sexes et aucune séparation en fonction du sexe n'a été faite avant le sevrage des animaux. Les jeunes de chaque portée ont été pesés et les portées ont été réparties dans les 4 groupes expérimentaux. Chaque groupe de traitement était constitué de trois portées, le nombre de petits par groupe était donc de 24. Les jeunes ont été sevrés à l'âge de 24 jours et 48 mâles ($n = 12$ par groupe) ont été gardés et stabulés par groupe de 3 par cage.

IV. Tests comportementaux

Les tests comportementaux visant à évaluer les capacités motrices, cognitives et émotionnelles des animaux soumis aux différentes doses de BDE-99 ont été effectués après 90 jours de traitement pour les 3 études mais également à d'autres moments qui diffèrent selon l'étude car ces tests dépendaient de l'âge des animaux.

Dans l'étude réalisée chez le rat adulte, la batterie de tests (open-field (OF), labyrinthe aquatique de Morris (LAM), labyrinthe en croix surélevé (LCS), Test d'Évitement d'un Stimulus Lumineux Aversif (TESLA)) a été effectuée avant le début de l'administration des traitements (J0), pour la randomisation des animaux, et après 90 jours d'exposition au BDE-99 (J90). Seul le test d'open-field a également été conduit après 28 et 60 jours de traitement (Figure 7), soit une fois par mois, afin de suivre l'évolution de l'activité des animaux au cours du temps. Contrairement aux autres paramètres quantifiés dans les autres tests comportementaux, l'activité locomotrice et exploratoire n'est pas affectée par la répétition du test.

Etude chez l'adulte

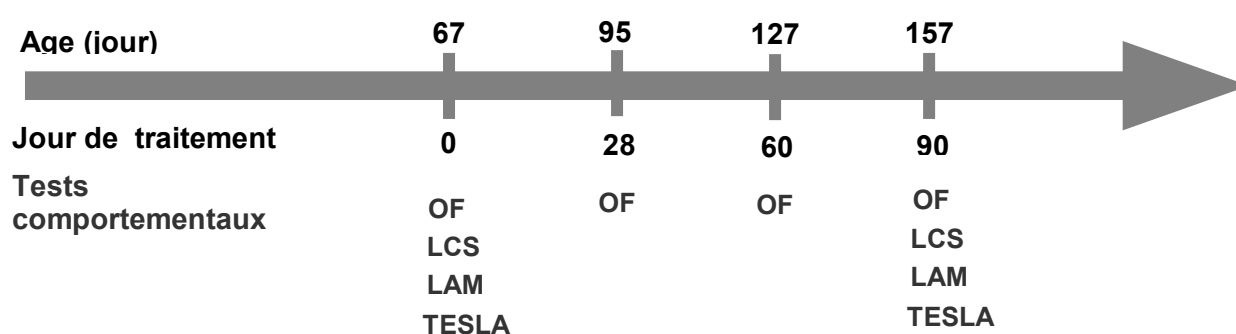
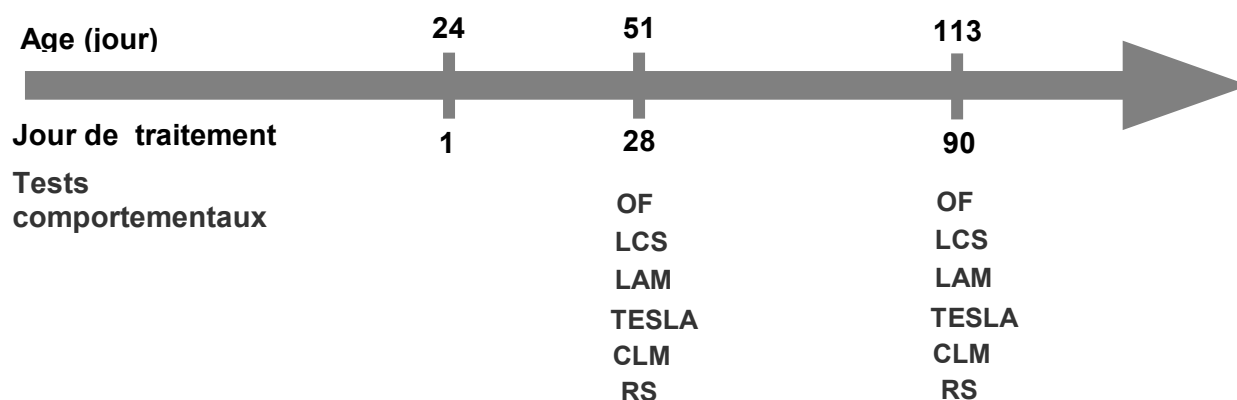


Figure 7 : Planning des tests comportementaux pour l'étude chez le rat adulte

Concernant les études réalisées chez les jeunes rats, deux tests comportementaux, le test de coordination locomotrice (CLM) et le test de reconnaissance sociale (RS), ont été ajoutés à la batterie de tests comportementaux (Figure 8).

Dans l'étude effectuée chez les jeunes fraîchement sevrés, la batterie de tests comportementaux n'a pu être réalisée avant le début des traitements en raison du manque de maturité des animaux pour être testés au niveau de l'apprentissage ou de l'anxiété. Cette batterie de tests a donc eu lieu après 28 jours de traitement ainsi qu'après 90 jours d'administration de BDE-99.

- Etude chez le jeune sevré



- Etude chez le jeune traité à partir de l'âge de 8 jours

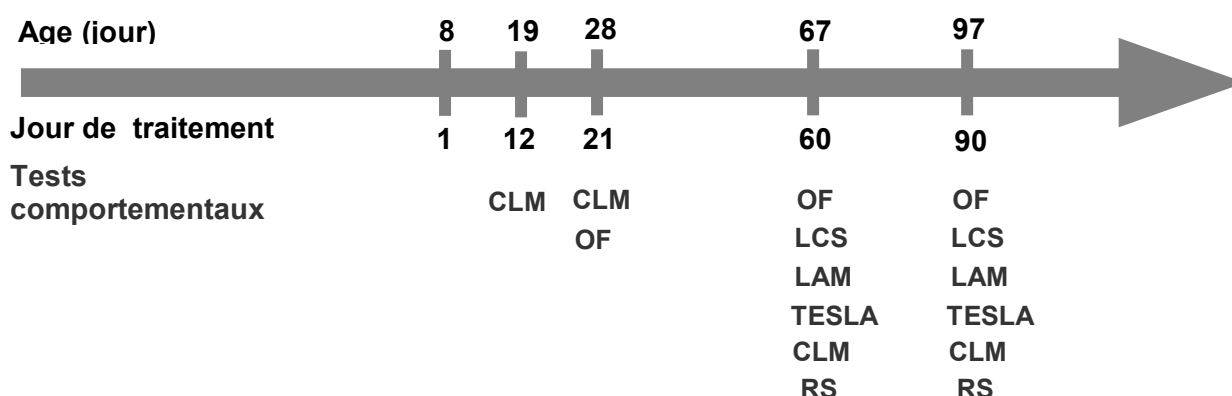


Figure 8 : Planning des tests comportementaux pour les études chez le jeune

Pour l'étude dans laquelle les animaux étaient traités à partir de l'âge de 8 jours, certains tests comportementaux ont été réalisés à l'âge de 19 jours (test de CLM) soit après 12 jours de traitements (J12), ou à l'âge de 28 jours, c'est-à-dire après 21 jours de traitement (J21) en ce qui concerne le test d'OF et le test de CLM. La batterie de 6 tests comportementaux a été réalisée après 60 et 90 jours d'administration des traitements (J60 et J90, respectivement). Ces tests n'ont pu être effectués, comme dans l'étude réalisée chez les jeunes traités à partir du sevrage, après une période de 28 jours de traitement car les rats étaient encore trop jeunes pour être testés dans des tests d'apprentissage, de mémoire ou d'anxiété.

Tous les tests ont été réalisés en lumière rouge ou en lumière blanche atténuée durant les premières heures de la phase nocturne. Le comportement des animaux a été filmé et enregistré à l'aide d'un caméscope relié à un magnétoscope.

La dénomination J0, J28, J60 et J90 concernant le moment où les tests comportementaux ont été réalisés signifie simplement que ces tests ont été effectués avant le début des traitements ou après une période de 28, 60 ou 90 jours de traitements et non qu'ils ont été effectués exactement à J0, J28, J60 ou J90. En effet, la batterie de tests s'est déroulée sur 2 semaines.

1. Le Test d'open-field

Principe :

Le test d'open-field permet d'évaluer l'activité locomotrice et exploratoire ainsi que l'état émotionnel de l'animal.

Dispositif expérimental :

Le dispositif est constitué d'une enceinte circulaire en plexiglas transparent de 60 cm de diamètre et de 50 cm de hauteur, divisée en 9 zones de surfaces égales : la zone centrale blanche et 8 zones périphériques (Figure 9).



Figure 9 : Dispositif expérimental de l'open-field

Procédure :

L'essai commence après la mise en place de l'animal au centre du dispositif et ses déplacements sont filmés pendant 3 minutes. Le dispositif est nettoyé avec une solution hydroalcoolique à 10 % et séché après le passage de chaque animal.

Variables mesurées :

Les variables mesurées sont le nombre de cases traversées, le nombre de redressements effectués, le nombre de passages en case centrale, le temps passé en case centrale, le nombre de fèces et la présence ou non d'urine.

2. Le labyrinthe aquatique de Morris

Principe :

Le labyrinthe aquatique de Morris, tenant son nom de Richard Morris qui l'a conçu, est l'un des tests les plus utilisés pour évaluer l'apprentissage et la mémoire spatiale chez les rongeurs (Morris, 1984). Le but de ce test est d'évaluer si les animaux sont capables de s'orienter et de nager rapidement vers une plate-forme, rendue invisible après opacification de l'eau, pour échapper à une situation aversive qu'est l'eau froide, en s'aidant de repères visuels (Morris, 1984). En fonction du protocole, ce test peut permettre d'évaluer différents types de mémoire telles que la mémoire de référence ou la mémoire de travail. Dans cette étude, c'est la mémoire spatiale de référence qui a été testée. Pour cela, l'emplacement de la plate-forme est resté le même au fur et à mesure des essais excepté lors du probe-test (test de rétention) au cours duquel la plate-forme a été retirée et au cours duquel ont été évaluées la rétention de la tâche ainsi que la stratégie employée pour se rappeler de l'emplacement de la plate-forme.

Dispositif expérimental :

Le dispositif est constitué d'un bassin circulaire en plastique, de 150 cm de diamètre et de 50 cm de profondeur, rempli d'eau à $25 \pm 1^\circ\text{C}$ sur une hauteur de 30 cm (Figure 10). L'eau est opacifiée avec du Blanc d'Espagne (CaCO_3 à 90%, référence : 5582, Droguerie Lorraine "à l'Arc en Ciel", Nancy, France). La plate-forme métallique mesure 20 cm de diamètre, elle est immergée à 1,5 cm sous la surface de l'eau et a été placée à équidistance du bord et du centre du bassin. Le bassin est virtuellement divisé en 4 quadrants et la plate-forme est placée au centre du quadrant nord-ouest. Des formes géométriques disposées autour du bassin (sud-est, nord-est, sud-ouest, nord-ouest), des cages de stimulation et des cages à métabolisme situées dans la pièce d'expérimentation constituent des repères visuels permettant à l'animal de se repérer et de mémoriser l'emplacement de la plate-forme.



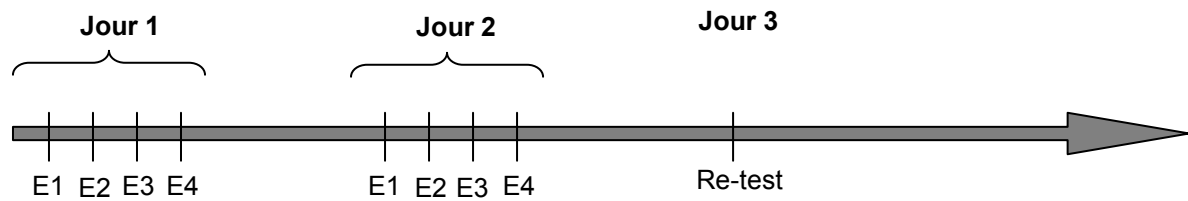
Figure 10 : Dispositif expérimental de la piscine de Morris

Procédure :

Le test était réalisé sur 3 jours consécutifs.

Concernant l'étude réalisée chez le rat adulte, lors de la première session de test effectuée avant le début des traitements, les 2 premiers jours ont correspondu aux 2 jours d'acquisition. L'emplacement de la plate-forme était resté inchangé et les animaux ont appris à retrouver la plate-forme à raison de 4 essais par jour. A chaque essai, le rat était placé dans l'eau, la tête face à la paroi et à des positions différentes (sud-est, nord-est, sud-ouest, nord-ouest) pour une durée maximale de 60 secondes. Une fois que le rat avait trouvé la plate-forme, il y restait pendant 15 s. S'il ne la trouvait pas au-delà de ce laps de temps, l'essai était terminé, il était alors guidé par l'expérimentateur jusqu'à la plate-forme et y restait dessus pendant 15 secondes également. Le troisième jour, un re-test, correspondant à un départ unique et permettant la réactivation de la trace mnésique, était réalisé. Lors de la deuxième session de test réalisée après 90 jours de traitement, le premier jour a correspondu à un jour d'acquisition composé de 4 essais consécutifs. Le deuxième jour a eu lieu un re-test et le troisième jour, un probe-test. Pour ce dernier, la plate-forme était retirée et les déplacements du rat, notamment dans le quadrant où était située la plate-forme (quadrant cible), étaient filmés et analysés pendant 60 secondes (Figure 11).

- Première session de test, avant le début des traitements



- Deuxième session de test, après 90 jours de traitement

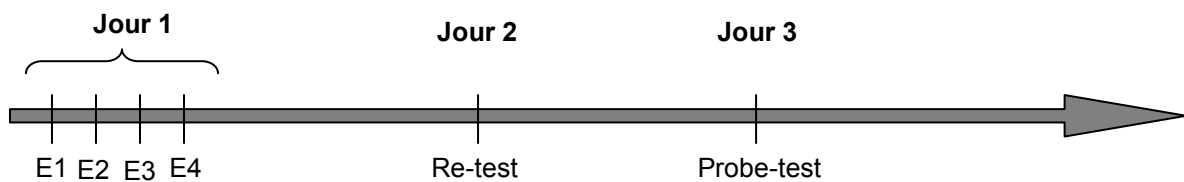
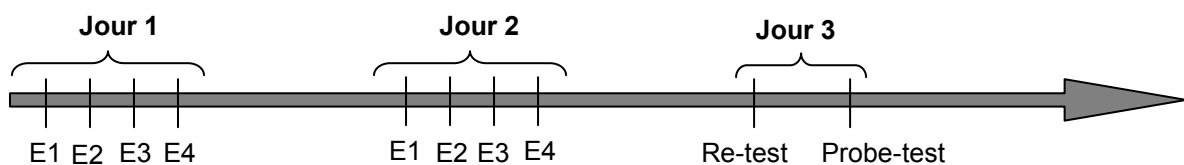


Figure 11 : Labyrinthe aquatique de Morris dans l'étude chez le rat adulte
Abréviation : E, Essai.

Pour les études effectuées chez le jeune, les deux sessions de test se déroulaient de la même façon. Les 2 premiers jours ont correspondu aux 2 jours d'acquisition. Le troisième jour avait lieu un re-test le matin suivi d'un probe-test l'après-midi (Figure 12).

- Première session de test



- Deuxième session de test

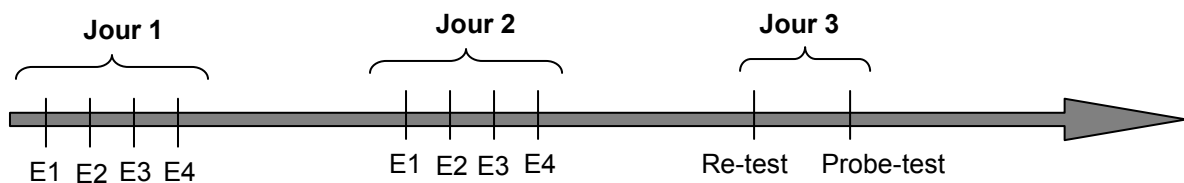


Figure 12 : Labyrinthe aquatique de Morris dans les études chez le jeune.
Abréviation : E, Essai.

Entre chaque essai, un intervalle d'environ 5 minutes est respecté afin d'éviter une fatigue excessive de l'animal. Le rat est séché à l'aide d'une serviette éponge et remis dans sa cage après chaque essai.

Variables mesurées :

Les variables mesurées sont le temps nécessaire pour atteindre la plate-forme lors des séries d'acquisition (latence d'accès à la plate-forme), du re-test et du probe-test ainsi que le nombre d'entrées dans la zone de la plate-forme, le nombre d'entrées dans le quadrant cible et le temps passé dans le quadrant cible lors de probe-test. A partir de ces variables, la latence moyenne d'accès à la plate-forme, qui est la moyenne des latences d'accès à la plate-forme pour les 4 essais consécutifs d'un même jour, est calculée. Cette variable permet de comparer les performances d'apprentissage des animaux sur plusieurs jours et entre 2 sessions de test, permettant ainsi l'évaluation de la mémoire à long-terme.

3. Le labyrinthe en croix surélevé (LCS)**Principe :**

Le LCS est l'un des tests d'anxiété les plus utilisés chez les rongeurs, il est basé sur les travaux de Montgomery (1955) et a été validé chez le rat par Pellow et al. en 1985. Le dispositif consiste en un labyrinthe surélevé à quatre branches avec deux branches ouvertes et deux branches fermées. Les branches ouvertes sont spontanément anxiogènes pour le rat qui passe donc préférentiellement son temps dans les branches fermées.

Dispositif expérimental :

Le dispositif, en bois plastifié, est constitué de 2 branches ouvertes (50 x 20 cm) perpendiculaires à 2 branches fermées (50 x 20 x 40 cm) et d'une zone centrale neutre à l'intersection des 4 branches. Le labyrinthe est surélevé à 85 cm du sol (Figure 13).



Figure 13 : Dispositif expérimental du LCS

Procédure :

L'essai commence après la mise en place de l'animal dans la zone centrale, la tête dirigée vers une branche fermée qui est la même pour tous les rats. Les animaux sont filmés pendant 5 minutes sous lumière blanche atténuée. Le plancher du labyrinthe ainsi que les parois des branches fermées sont nettoyés avec une solution hydroalcoolique à 10 % et séchés après le passage de chaque animal.

Variables mesurées :

Les variables mesurées sont le nombre d'entrées dans les branches ouvertes et dans les branches fermées ainsi que le temps passé dans les branches ouvertes, dans les branches fermées et dans la zone centrale neutre. Le nombre de fèces et la présence ou non d'urine sont également relevés. A partir de ces variables, le nombre total d'entrées dans les branches qui renseigne sur l'activité locomotrice de l'animal ainsi que le pourcentage d'entrées en branches ouvertes [% entrées branches ouvertes = (nombre entrées branches ouvertes / nombre total d'entrées) x 100] reflétant le degré d'anxiété du rat sont calculés.

4. Le Test d'Evitement d'un Stimulus Lumineux Aversif (TESLA)**Principe :**

Le TESLA est un dispositif de conditionnement opérant, processus par lequel un comportement devient plus ou moins probable selon les conséquences qui y sont associées (Tavris et Wade, 1999). Par définition, un renforcement est la procédure qui entraîne une augmentation de la probabilité d'apparition d'un comportement, procédure contraire à la punition qui, elle, entraîne une diminution de la probabilité d'apparition d'un comportement (Freixa i Baqué, 1981). Une procédure est dite positive lorsqu'elle amène à présenter un stimulus. A l'inverse, une procédure est qualifiée de négative quand elle amène à retirer un stimulus. Par conséquent, on appelle renforcement négatif la procédure qui entraîne une augmentation de la fréquence d'émission d'un comportement suite à la suppression d'un stimulus nommé stimulus aversif (Freixa i Baqué, 1981). Le rat ayant une aversion naturelle pour un environnement fortement éclairé, le TESLA est un dispositif de conditionnement opérant reposant sur le renforcement négatif avec pour stimulus négatif l'extinction de la lumière de forte intensité.

L'animal apprend à discriminer aux plans spatial et temporel parmi deux leviers celui qui est actif et dont l'action permet d'obtenir une période d'obscurité.

Dispositif expérimental :

Le dispositif est composé d'une boîte isolée (50 x 40 x 37 cm) fortement éclairée (1200 lux), munie de deux leviers dont l'un est rendu actif et l'autre inactif à l'aide d'un logiciel informatique (Open System 1995, 1996 ; TESLA v2.4 (C) ETAP) (Figure 14). Chaque appui

sur le levier actif pendant la phase éclairée est suivi d'une période d'obscurité de 30 secondes. Chaque cage est connectée à un système informatique d'enregistrement et de traitements des données.



Figure 14 : Dispositif expérimental du TESLA

Procédure :

La salle expérimentale est faiblement éclairée. Le rat est placé au centre du dispositif, la tête située vers le fond de la boîte, puis celle-ci est refermée et fortement éclairée (1200 lux). Chaque appui sur le levier actif pendant la phase éclairée donne lieu à une période d'obscurité de 30 secondes sans cumul et amène l'animal à apprendre à différencier le levier actif du levier inactif.

Dans l'étude effectuée chez le rat adulte, le test s'était déroulé sur 2 jours avec une session de 10 minutes le premier jour et une session de 20 minutes le deuxième jour. La première session, appelée session de test, a correspondu à une phase d'habituation des animaux au dispositif expérimental et d'acquisition de la tâche alors que la deuxième session, dite de re-test, est la phase de rappel pendant laquelle les animaux ont appris ou réappris à discriminer les 2 leviers.

Pour les deux études réalisées chez le jeune, le test s'est déroulé sur une session unique de 20 minutes.

Chaque cage de test est nettoyée avec une solution hydroalcoolique à 10 % et séchée après le passage de chaque animal.

Variables mesurées :

Les variables mesurées sont le nombre d'appuis sur le levier actif et ceux sur le levier inactif. A partir de ces variables, la discrimination du levier actif qui est le rapport entre les appuis sur le levier actif et les appuis sur le levier inactif est évaluée.

5. Test de coordination locomotrice

Principe :

Le test de coordination locomotrice permet d'évaluer le degré de déficit neuromoteur chez le rat. Pour cela, l'animal est placé dans une piscine ronde remplie d'eau froide dont il peut s'échapper en grimpant le long d'une tige filetée pour éviter une situation aversive qu'est l'eau froide. Au sommet de la tige, il peut se rétablir sur une plate-forme. Une maturation nerveuse et musculaire satisfaisante est indispensable pour réussir ce test.

Dispositif expérimental :

Le dispositif consiste en un récipient en plastique opaque de forme cylindrique de 40 cm de diamètre et de 60 cm de hauteur contenant de l'eau à 21°C sur une hauteur de 50 cm. Le dispositif a été adapté à l'âge des rats. Pour des rats âgés de 19 et 28 jours au moment du test, un récipient de plus petite taille est utilisé, il est de forme cylindrique également mais son diamètre est de 20 cm et sa hauteur de 60 cm (Figure 15). Il est alors rempli sur une hauteur de 50 cm avec de l'eau à 30°C pour éviter une hypothermie du jeune animal. Une tige filetée métallique, de 100 cm de hauteur graduée tous les 10 cm à partir de la surface de l'eau, est placée au centre du dispositif et une plate-forme sur laquelle les rats peuvent se rétablir est située au sommet de celle-ci. La distance entre la surface de l'eau et la plate-forme, c'est-à-dire la hauteur à atteindre par le rat pour se rétablir sur la plate-forme, est de 60 cm.



Figure 15 : Dispositif expérimental du test de coordination locomotrice

Procédure :

L'essai commence en plaçant l'animal dans l'eau, la tête dirigée vers la paroi du récipient. Le rat a la possibilité de sortir de l'eau en grimpant le long de la tige filetée au sommet de laquelle la plate-forme est située. L'essai s'arrête quand l'animal se rétablit sur la plate-forme. Ce test comprend 3 phases : une phase de nage, une phase d'escalade de la tige et le rétablissement sur la plate-forme. L'animal a une minute maximum pour attraper la tige, temps qui est réduit à 30 secondes pour les jeunes rats âgés de 19 jours. En cas d'échec, l'expérimentateur le guide jusqu'à la tige pour éviter l'épuisement de l'animal. Le rat a 2 minutes pour se rétablir sur la plate-forme à partir du moment où il a attrapé la tige. S'il n'y parvient pas, il est considéré comme ayant échoué au test. Chaque rat est ensuite séché à l'aide d'une serviette éponge et remis dans sa cage après chaque essai.

Variables mesurées :

Les variables mesurées sont la latence de saisie de la tige, le temps pour se rétablir sur la plate-forme depuis le moment où il a saisi la tige, le nombre de chute et la hauteur maximale atteinte le long de la tige.

6. Test de reconnaissance sociale**Principe :**

Ce modèle social, initialement décrit en 1982 par Thor et Holloway, repose sur les interactions qu'un rat préalablement isolé développe avec un jeune congénère inconnu. Un rat adulte, à qui on présente pour la première fois un jeune congénère (phase de test), l'explore pendant une longue période. Si le même jeune est à nouveau présenté au même adulte (phase de re-test), le temps d'exploration est alors réduit signifiant que le rat adulte a bien mémorisé les caractéristiques du jeune rat. En cas de troubles mnésiques, à la deuxième session de présentation, le rat adulte explore de nouveau le jeune congénère comme s'il le rencontrait pour la première fois. L'intérêt de ce modèle est qu'il utilise une situation de test faisant partie du répertoire comportemental naturel du rat en faisant appel à la mémoire olfactive. Ce test a été proposé par Dantzer et al. (1987) et Perio et al. (1989) pour l'étude des effets mnémocognitifs de nouveaux composés.

Dispositif expérimental :

Des boîtes en plastique transparent sont utilisées pour isoler individuellement les rats avant le test et le re-test. Le dispositif du test de mémoire sociale était constitué de la cage d'habitation de l'animal sur laquelle était posée une plaque en plexiglas transparent (Figure 16).



Figure 16 : Dispositif expérimental du test de reconnaissance sociale

Procédure :

Chaque rat est isolé individuellement dans une boîte pendant une durée minimale de 15 minutes, avant d'être placé seul dans sa cage d'habitation, située dans la pièce d'expérimentation pendant 5 minutes, correspondant à la phase d'habituation. Un jeune congénère est ensuite introduit pour la première fois dans cette cage qui est recouverte d'une plaque en plexiglas transparent (75 x 50 cm) pour empêcher les rats de s'échapper et permettre leur observation. L'essai commence dès que le rat adulte est mis en présence du jeune congénère, cette phase correspond au test, et les interactions entre les animaux sont enregistrées pendant 5 minutes. Le jeune rat est ensuite retiré de la cage. Ce même jeune rat est remis en présence de ce même adulte une heure après le test et cette phase correspondait au re-test, elle dure 5 minutes pendant lesquelles les interactions entre les animaux sont également enregistrées. Le re-test est précédé comme le test d'une phase d'habituation pendant laquelle le rat adulte est laissé seul dans sa cage d'habitation toujours située dans la salle d'expérimentation pour une durée de 5 minutes.

Variables mesurées :

Les variables mesurées sont la latence de flirages ano-génitaux et la durée de ces flirages initiés par le rat adulte à l'égard du jeune congénère.

V. Mesures physiologiques

1. Evolution pondérale et suivi des animaux

Les animaux ont été pesés 3 fois par semaine.

La viabilité et le comportement des rats ont été enregistrés quotidiennement pendant toute l'expérimentation. Au cours de celle-ci, les animaux auraient été sacrifiés sous anesthésie et autopsiés si l'un des signes suivants avait été observé :

- souffrance (cachexie, affaiblissement, difficulté à bouger ou à manger,...) ;
- toxicité des produits (comportement anormal, convulsions,...) ;
- perte de poids de 25% cumulés sur 3 jours consécutifs ou de 20% en 1 jour.

2. Surveillance de l'ouverture des yeux

En ce qui concerne l'étude réalisée chez les jeunes traités à partir de l'âge de 8 jours, l'ouverture des yeux, qui est un indice de développement physique, a été relevée chez les animaux entre 14 et 18 jours.

3. Prises alimentaire et hydrique des animaux

Les prises alimentaire et hydrique de l'ensemble des cages de rats ont été relevées 3 fois par semaine pour mesurer les quantités de nourriture et d'eau ingérées par les rats tout au long de l'étude. La quantité de nourriture ingérée par cage de rat à chaque prise alimentaire a été ramenée à la quantité de nourriture ingérée par rat par semaine puis à la quantité de nourriture ingérée, en gramme, par kg de rat pour chaque semaine. Il en a été de même pour l'évaluation de la prise hydrique. Les animaux ne pouvant pas être séparés pour permettre des mesures individuelles des prises alimentaire ou hydrique, la quantité de nourriture ou de boisson consommée pour chaque cage a été divisée par le nombre de rat qui se trouvait dans la cage.

4. Dosage d'enzymes hépatiques

Prélèvements de sang

Des prélèvements de sang ont été effectués à la fin de la période de 90 jours de traitement. Concernant l'étude réalisée chez le rat adulte, les prélèvements ont été réalisés au niveau de la queue sans anesthésier l'animal. Pour cela, le rat a été maintenu par une personne, pendant que l'expérimentateur incisait le bout de la queue avec une lame de scalpel. Pour les études réalisées chez le jeune rat traité à partir de l'âge de 8 jours ou traité à partir du sevrage, les prélèvements de sang ont été effectués au niveau de l'aorte abdominale, après anesthésie des animaux. Les animaux ont été anesthésiés par des injections intrapéritonéales d'acépromazine (Calmivet, Vetoquinol, France) à la dose de 2 mg/kg et de kétamine (Kétamine 1000, Virbac, France) à la dose de 50 mg/kg.

Un volume de 2 ml de sang a été prélevé et recueilli dans chaque tube. Les échantillons de sang récupérés ont été placés à 4°C pendant 20 à 30 minutes puis centrifugés à 1500g pendant 15 minutes. Les sérums et les plasmas ont été collectés dans des tubes en polypropylène. Ceux concernant les études chez le jeune ont été congelés à -20°C puis conservés à -80°C pour des analyses ultérieures.

Bilan hépatique

Pour l'étude réalisée chez le rat adulte, un bilan hépatique a été effectué sur chaque échantillon de sérum pour doser les transaminases (Aspartate aminotransférase (ASAT), Alanine aminotransférase (ALAT)), la phosphatase alcaline (PA) et la gammaglutamyltransférase (GGT). Les analyses ont été réalisées sur un système ARCHITECT ci8200 (Abbott Diagnostics, Rungis, France) utilisant les kits de réactifs 7D81 (ASAT), 7D56 (ALAT), 7D65 (GGT), 7D55-21 et 7D55-31 (PA).

5. Poids des organes

A la fin de la période d'exposition de 90 jours, les rats ont été sacrifiés sous anesthésie et autopsiés. Le foie, le cerveau, les reins, le thymus et la rate ont été prélevés et pesés avant d'être congelés à - 80°C pour des analyses ultérieures.

6. Dosage de la concentration en BDE-99 dans le tissu adipeux

Du tissu adipeux de la zone abdominale de tous les animaux a été prélevé à la fin de la période d'exposition au BDE-99 et congelé à - 80°C jusqu'aux analyses des concentrations en BDE-99.

En raison de la quantité importante de tissu adipeux nécessaire pour réaliser ces dosages, une quantité équivalente de tissu adipeux des rats d'un même groupe a été poolée et homogénéisée au moyen d'un ultra-turrax T25 grinder (Janke and Kunkel, IKA-Labortechnik, Stauffel, Germany). Les dosages de la concentration en BDE-99 ont été réalisés au LABERCA (Nantes, ENV, France) sur le système ISO 17025 selon la méthode décrite par Ounnas et al. (2010).

VI. Analyses statistiques

En raison de la non-normalité de la distribution des échantillons et de l'inégalité des variances, des tests statistiques non paramétriques ont été utilisés (Siegel and Castellan, 1998). Le test de Kruskal-Wallis a été utilisé pour détecter des différences entre les groupes expérimentaux avant le début des traitements, ou après 28, 60 ou 90 jours de traitement selon l'étude. En cas de significativité, ce test a été suivi du test de Mann-Whitney pour comparer les groupes 2 à 2. Le test de Friedman, suivi du test de Wilcoxon en cas de significativité, ont été utilisés pour des mesures répétées. Les traitements statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel Statview® 5 (SAS, Institute Inc., USA). Les résultats ont été exprimés en moyenne $\pm$ erreur standard de la moyenne (E.S.M.). Les différences ont été considérées significatives pour des valeurs de $p < 0,05$.

Résultats

Etude I : Effets d'une exposition de 90 jours à des doses environnementales de BDE-99 chez le rat mâle adulte.

Cette partie de mon travail de thèse a eu pour but d'étudier les effets neurocomportementaux et physiologiques d'un traitement au BDE-99 administré quotidiennement à des doses réalistes pendant une longue période (90 jours) à des rats mâles adultes de souche Sprague-Dawley. Les animaux ont été suivis tout au long de l'étude sur le plan physiologique par leur observation quotidienne, les relevés de leur poids et de leurs prise alimentaire et hydrique et sur le plan comportemental par une batterie de tests. A la fin de l'étude, les animaux ont été euthanasiés en vue du prélèvement des organes et du tissu adipeux nécessaires pour réaliser les dosages.

Aucun signe évident de toxicité liée au BDE-99 n'a été observé tout au long de la période expérimentale. Cependant, au début de l'étude, un rat de chaque groupe traité avec le BDE-99 est mort. C'est une rupture d'un anévrisme au niveau de l'aorte thoracique qui a provoqué la mort de ces 3 animaux.

I. Analyse comportementale

Les tests comportementaux ont été réalisés avant le début de l'administration des traitements (J0) et à la fin de l'exposition quotidienne pendant 90 jours (J90) au BDE-99. Seul le test d'open-field a également été conduit après 28 et 60 jours de traitement (cf. Figure 7 de la partie Matériels et méthodes).

1. Activité locomotrice et exploratoire des animaux dans le test d'open-field

1.1. Comparaison des performances entre les groupes

Les effets d'une administration orale chronique de BDE-99 sur l'activité locomotrice et exploratoire des animaux ont été évalués dans le test d'open-field après 28, 60 et 90 jours de traitement (J28, J60, J90, respectivement) et sont présentés dans le tableau 11.

Tableau 11 : Activité locomotrice et exploratoire des animaux dans le test d'open-field avant et après une exposition de 28, 60 et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*).

		Dose de BDE-99 (µg/kg/jour)				K-W (ddl = 3)
		0	0,15	1,5	15	
Nombre total de cases traversées	J0	92,0 ± 3,9	76,6 ± 4,3	79,3 ± 4,3	80,0 ± 5,1	H = 5,52 p = 0,14
	J28	49,4 ± 3,5	44,6 ± 6,1	50,3 ± 2,4	45,9 ± 5,1	H = 0,67 p = 0,88
	J60	40,9 ± 4,9	38,6 ± 2,9	41,6 ± 4,5	43,6 ± 4,0	H = 1,71 p = 0,64
	J90	43,8 ± 4,4	45,7 ± 2,6	51,1 ± 4,4	55,7 ± 6,4	H = 2,13 p = 0,55
Nombre total de redressements	J0	18,0 ± 1,6	15,4 ± 1,5	17,9 ± 1,3	19,1 ± 1,9	H = 3,26 p = 0,35
	J28	15,0 ± 1,1	14,4 ± 1,5	16,1 ± 1,4	16,3 ± 2,5	H = 1,26 p = 0,74
	J60	13,5 ± 1,6	15,3 ± 1,0	16,6 ± 1,5	16,0 ± 2,1	H = 2,81 p = 0,42
	J90	15,5 ± 1,9	16,6 ± 0,5	16,9 ± 1,9	20,7 ± 1,8	H = 4,37 p = 0,22
Nombre de passages en case centrale	J0	4,9 ± 0,6	2,4 ± 0,5	2,4 ± 0,4	4,1 ± 0,7	H = 9,52 p = 0,02
	J28	2,6 ± 0,6	2,0 ± 0,9	3,0 ± 0,7	2,9 ± 0,5	H = 1,28 p = 0,73
	J60	3,3 ± 0,9	1,9 ± 0,5	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,4	H = 6,07 p = 0,11
	J90	2,9 ± 0,5	2,6 ± 0,9	1,3 ± 0,3	1,6 ± 0,6	H = 5,14 p = 0,16
Temps en case centrale (s)	J0	7,8 ± 1,2	6,5 ± 0,9	4,5 ± 1,0	11,0 ± 3,7	H = 6,24 p = 0,10
	J28	8,4 ± 1,9	9,9 ± 2,6	6,0 ± 0,8	6,3 ± 0,7	H = 1,64 p = 0,65
	J60	4,6 ± 1,5	5,4 ± 1,8	4,9 ± 1,6	2,6 ± 0,6	H = 3,50 p = 0,32
	J90	7,6 ± 1,7	7,7 ± 3,4	3,6 ± 0,8	3,9 ± 1,3	H = 4,02 p = 0,26

Abréviations : K-W, test de Kruskal-Wallis

Les résultats sont exprimés en moyenne ± E.S.M.

A J0 : n = 8 pour tous les groupes

A J28, J60 et J90 : n = 8 pour le groupe Témoin et n = 7 pour chaque groupe traité avec le BDE-99.

Aucune différence significative n'a été observée entre les groupes concernant l'activité locomotrice et exploratoire des animaux aussi bien à J0, J28, J60 ou J90. En effet, le nombre total de cases traversées, le nombre total de redressements effectués, le nombre de passages au centre ainsi que le temps passé au centre étaient similaires chez les animaux de tous les groupes (Tableau 11).

1.2. Evolution des performances au sein de chaque groupe

Le test apparié de Friedman a montré une différence significative du nombre total de cases traversées entre les différents tests d'open-field conduits à J0, J28, J60 et J90 et pour tous les groupes de traitements (Témoin : $F = 18,49$; $p < 0,001$, BDE 0.15 : $F = 14,91$; $p < 0,01$, BDE 1.5 : $F = 16,83$; $p < 0,001$ et BDE 15 : $F = 14,83$; $p < 0,01$). Une diminution

significative du nombre total de case traversées a été observée entre J0 et J90 chez les rats des groupes Témoin ($z = 2,52$; $p = 0,01$), BDE 0.15 ($z = 2,37$; $p = 0,02$) et BDE 1.5 ($z = 2,37$; $p = 0,02$). Une tendance à la diminution a été observée pour les animaux du groupe BDE 15 ($z = 1,86$; $p = 0,06$). Entre J0 et J28, une diminution du nombre de cases traversées a été observée chez l'ensemble des groupes d'animaux (Témoin : $z = 2,52$; $p = 0,01$, BDE 0.15 : $z = 2,37$; $p = 0,02$, BDE 1.5 : $z = 2,37$; $p = 0,02$ et BDE 15 : $z = 2,37$; $p = 0,02$). De J28 à J60, seuls les rats du groupe Témoin ont diminué significativement leur nombre de cases traversées ($z = 2,12$; $p = 0,03$). Une augmentation significative de cette variable a été mise en évidence entre J60 et J90 seulement chez les rats traités aux 2 plus fortes doses de BDE-99 (BDE 1.5 et BDE 15) ($z = 2,21$; $p = 0,03$ et $z = 2,38$; $p = 0,02$, respectivement) (Figure 17).

Le nombre total de redressements a été significativement différent d'une séance de test à l'autre uniquement chez les animaux Témoins ($F = 8,07$; $p = 0,04$) contrairement à ceux des groupes BDE 0.15 ($F = 1,62$; $p = 0,66$), BDE 1.5 ($F = 1,46$; $p = 0,69$) et BDE 15 ($F = 4,41$; $p = 0,22$). Les animaux du groupes Témoin ont notamment eu tendance à diminuer leur nombre total de redressements entre J0 et J60 ($z = 1,90$; $p = 0,06$) (Figure 17).

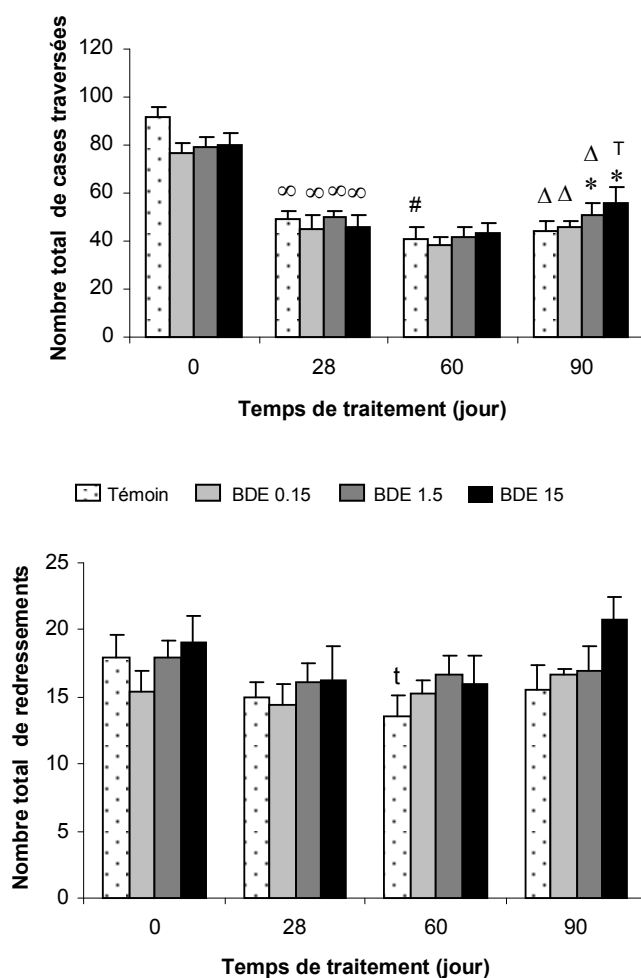


Figure 17 : Activité locomotrice des animaux dans le test d'open-field avant et après 28, 60 ou 90 jours d'administration de BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, *p.o.*).

Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ E.S.M.

Δ : $p < 0,05$; T : $0,05 < p < 0,10$ (J90 vs. J0) ; * : $p < 0,05$ (J90 vs. J60) ;
 # : $p < 0,05$ (J60 vs. J28) ; ∞ : $p < 0,05$ (J28 vs. J0) ; t : $0,05 < p < 0,10$ (J60 vs. J0)

Le test apparié de Friedman a montré une différence significative du nombre de passages au centre entre les différents temps (J0, J28, J60 et J90) pour les rats des groupes BDE 1.5 et BDE 15 ($F = 9,87$; $p = 0,02$ et $F = 14,59$; $p < 0,01$, respectivement). Les rats de ces deux groupes ont significativement diminué leur nombre de passages au centre de J28 à J60 ($z = 2,06$; $p = 0,04$ et $z = 2,04$; $p = 0,04$, respectivement) contrairement à ceux des groupes Témoin et BDE 0.15 (Figure 18).

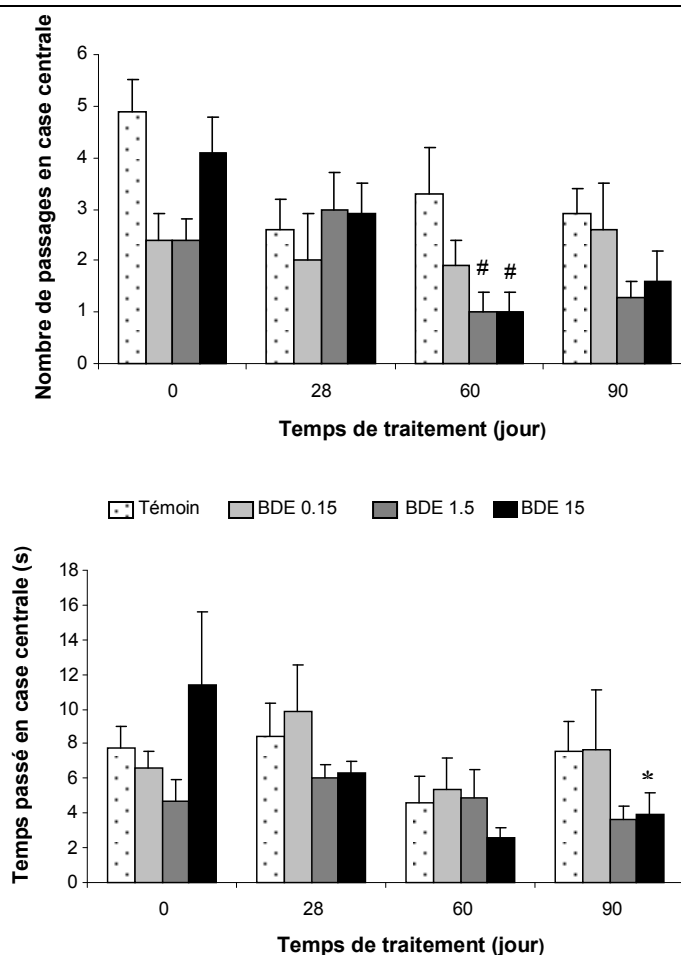


Figure 18 : Niveau d'anxiété des animaux dans le test d'open-field avant et après 28, 60 ou 90 jours d'administrations de BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, *p.o.*).

Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ E.S.M.

: $p < 0,05$ (J60 vs. J28) ; * : $p < 0,05$ (J90 vs. J0)

Le test apparié de Friedman a montré une différence significative du temps passé au centre entre les différents temps (J0, J28, J60 et J90) uniquement pour les rats du groupe BDE 15 ($F = 12,85$; $p < 0,01$). Les rats de ce groupe ont significativement diminué leur temps passé au centre de J0 à J90 ($z = 2,20$; $p = 0,03$) (Figure 18).

En résumé, l'activité locomotrice des animaux traités avec le BDE-99, quelque soit la dose, n'a pas été différente de celle des animaux Témoins aux différents temps où le test d'open-field a été conduit. Généralement, des rats confrontés plusieurs fois à un même test présentent une baisse de leur activité au fil du temps. Or, les animaux traités à la plus forte dose de BDE-99 de 15 $\mu\text{g/kg/j}$ ont été les seuls à ne pas avoir présenté de baisse significative de leur activité de J0 à J90, ils ont même augmenté significativement leur activité de J60 à J90 comme ceux du groupe BDE 1.5. De plus, le nombre de passage en

case centrale, case spontanément anxiogène pour l'animal, ainsi que le temps passé dans celle-ci, chez les animaux des groupes BDE 1.5 et BDE 15 étaient inférieurs à ceux des animaux des autres groupes. Le temps passé dans cette zone a même diminué au cours du temps pour les rats traités à la plus forte dose de BDE-99. Le traitement au BDE-99, surtout aux 2 plus fortes doses, a induit un maintien de l'activité des animaux au cours du temps tout en induisant une certaine anxiété chez ceux-ci.

2. Mémoire spatiale et apprentissage des animaux dans le labyrinthe aquatique de Morris

Le test de la piscine de Morris a été réalisé avant et après 90 jours d'administration quotidienne de BDE-99. L'emplacement de la plate-forme est resté inchangé pendant toute la durée du test. Dans cette étude, lors de la première session de test de la piscine de Morris, c'est-à-dire avant la période de traitement, les 2 premiers jours ont correspondu aux jours d'acquisition au cours desquels les animaux ont appris à retrouver la plate-forme à raison de 4 essais par jour. Un re-test a été réalisé le troisième jour et a correspondu à un départ unique.

Lors de la deuxième session de test réalisée à la fin de la période de traitement, le jour 1 a correspondu à un jour d'acquisition au cours duquel l'animal a réappris la localisation de la plate-forme, suivi par un re-test le jour 2 et un probe-test le jour 3.

2.1. Comparaison des performances entre les groupes

La latence moyenne d'accès à la plate-forme, lors du premier jour de test, des rats traités avec le BDE-99 n'a pas été significativement différente de celle des rats Témoins que ça soit avant ($H_{(ddl = 3)} = 0,72$; $p = 0,87$) ou à la fin de la période de traitement ($H_{(ddl = 3)} = 1,92$; $p = 0,59$).

Lors du probe-test réalisé à J90, la latence d'accès à la zone de la plate-forme ainsi que le nombre de passage au niveau de cette zone des rats traités avec le BDE-99 n'ont pas été différents de ceux des rats Témoins [$H_{(ddl = 3)} = 3,16$; $p = 0,37$ et $H_{(ddl = 3)} = 2,25$; $p = 0,52$, respectivement]. Le nombre d'entrées dans le quadrant cible, qui est le quadrant dans lequel se trouvait la plate-forme, n'a pas été significativement différent entre les quatre groupes de traitement [$H_{(ddl = 3)} = 6,69$; $p = 0,08$]. Le temps passé dans celui-ci n'a pas non plus été significativement différent entre les quatre groupes de traitement [$H_{(ddl = 3)} = 2,73$; $p = 0,44$] (Figure 19).

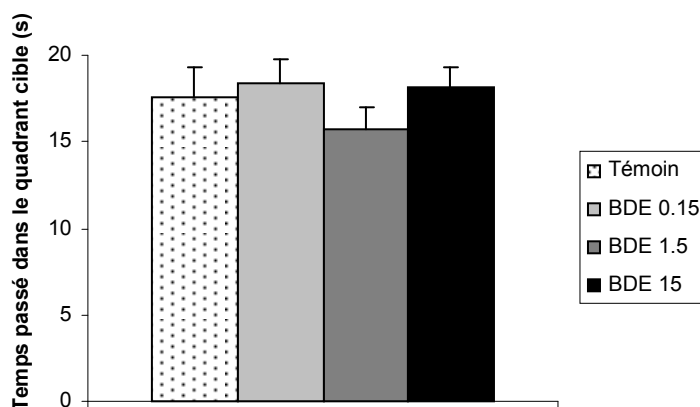


Figure 19 : Temps passé dans le quadrant cible lors du probe-test dans le labyrinthe aquatique de Morris à la fin de l'exposition au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, *p.o.*, 90 jours).

Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ E.S.M.

2.2. Evolution des performances au sein de chaque groupe

Au cours de la première session de test, les latences d'accès à la plate-forme enregistrées lors du premier essai de chaque jour sont représentées dans la figure 20. On a ainsi observé une amélioration, significative ou tendant à l'être, des performances en fonction des jours de test pour tous les groupes de traitement : Témoin ($F = 5,23$; $p = 0,07$), BDE 0.15 ($F = 8,58$; $p = 0,01$), BDE 1.5 ($F = 7,00$; $p = 0,03$) et BDE 15 ($F = 10,13$; $p = 0,01$). La latence d'accès à la plate-forme lors du premier essai du troisième jour a été significativement inférieure à celle du premier essai du premier jour pour tous les groupes de traitement : Témoin ($z = 2,20$; $p = 0,03$), BDE 0.15 ($z = 2,38$; $p = 0,02$), BDE 1.5 ($z = 2,24$; $p = 0,02$) et BDE 15 ($z = 2,53$; $p = 0,01$). La figure 20 représente aussi les latences d'accès à la plate-forme mesurées lors du premier essai de chaque jour lors de la deuxième session de test réalisée à la fin de la période de traitement. Seuls les rats traités avec le BDE-99 aux 2 plus fortes doses, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, ont amélioré significativement leurs performances ($z = 2,37$; $p = 0,02$ et $z = 2,20$; $p = 0,03$, respectivement) en fonction des jours de test contrairement aux rats Témoins et ceux traités à la plus faible dose de BDE-99 ($z = 0,85$; $p = 0,40$ et $z = 1,01$; $p = 0,31$, respectivement) (Figure 20).

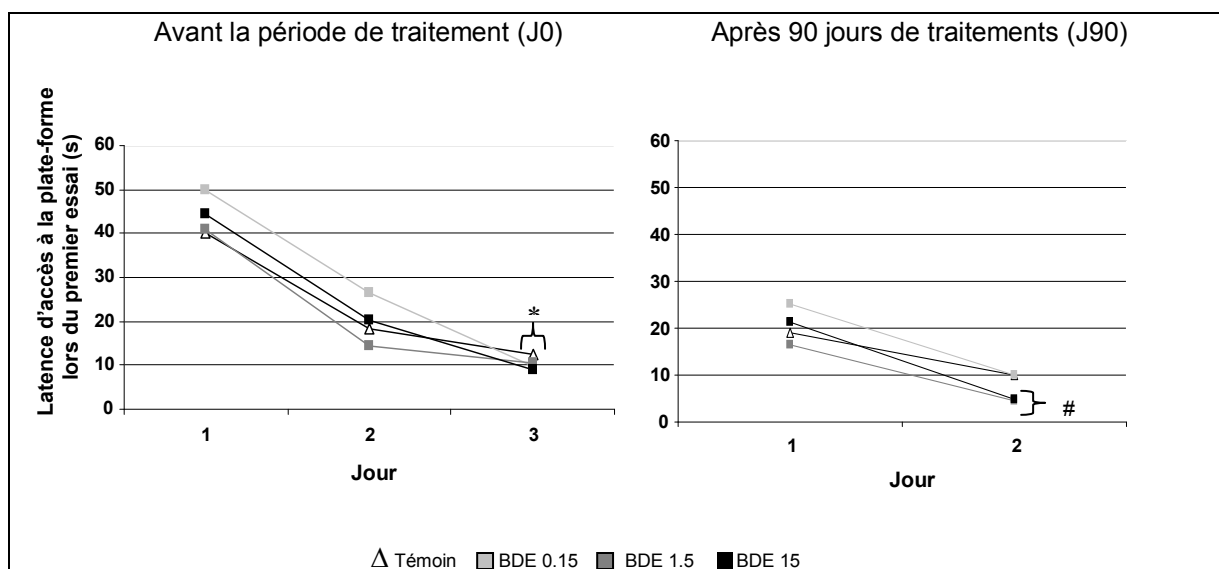


Figure 20 : Latence d'accès à la plate-forme lors du premier essai de chaque jour dans le labyrinthe aquatique de Morris avant et après l'exposition de 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, *p.o.*).

Les résultats sont exprimés en moyenne.

* : $p < 0,05$ (jour 3 vs. jour 1) à J0 ; # : $p < 0,05$ (jour 2 vs. jour 1) à J90.

La mémoire à long-terme des animaux a pu être évaluée en comparant la latence moyenne d'accès à la plate-forme lors du jour 1 avant et à la fin de la période de traitement (Figure 21).

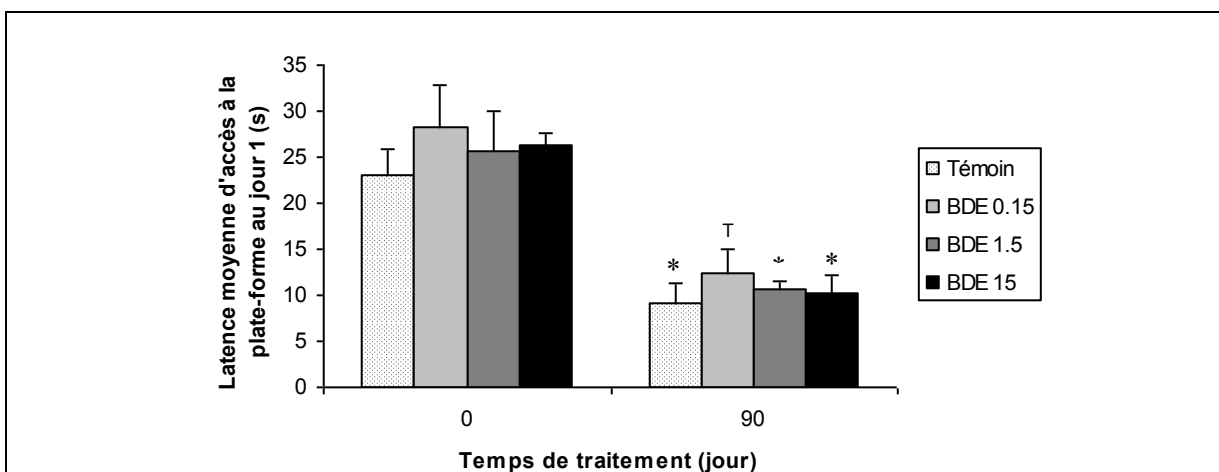


Figure 21 : Latence moyenne d'accès à la plate-forme dans le labyrinthe aquatique de Morris lors du premier jour de test avant et après l'exposition de 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, *p.o.*).

Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ E.S.M.

* : $p < 0,05$; T : $0,05 < p < 0,10$, statistiquement différent des résultats mesurés à J0.

Une amélioration significative, ou tendant à l'être, des performances entre avant et après la période de traitement a été observée chez les animaux des groupes Témoin ($z = 2,52$; $p = 0,01$), BDE 0.15 ($z = 1,86$; $p = 0,06$), BDE 1.5 ($z = 2,37$; $p = 0,02$) et BDE 15 ($z = 2,37$; $p = 0,02$) (Figure 21).

En résumé, les résultats obtenus dans le labyrinthe aquatique de Morris ont montré que les animaux traités avec le BDE-99 présentaient des performances équivalentes à celles des animaux Témoins.

3. Niveau d'anxiété des animaux dans le labyrinthe en croix surélevé

Les branches ouvertes du dispositif expérimental sont spontanément anxiogène pour un rat, il passe donc préférentiellement plus de temps dans les branches fermées qui constituent pour lui un espace protégé. Afin d'évaluer l'anxiété de l'animal, il suffit de comparer le nombre d'entrées dans les branches ouvertes par rapport au nombre total d'entrées dans les branches. En effet, un animal qui n'a pas de préférence pour l'une ou l'autre des branches fait autant d'entrées en branches ouvertes qu'en branches fermées.

3.1. Comparaison des performances entre les groupes

Le niveau d'anxiété des animaux a été évalué avant et à la fin des 90 jours d'administration quotidienne de BDE-99 et les résultats sont présentés dans le tableau 12.

Aucune différence entre les groupes de traitement n'a été observée avant ou à la fin de la période d'administration concernant le nombre d'entrées dans les branches ouvertes, le nombre d'entrées dans les branches fermées, le temps passé dans les branches ouvertes, le temps passé dans les branches fermées et le temps passé dans la zone centrale (Tableau 12). Le nombre total d'entrées dans les branches, reflet de l'activité locomotrice et exploratoire des animaux, et le pourcentage du nombre d'entrées en branches ouvertes, reflet du niveau d'anxiété des animaux, ont également été homogènes pour l'ensemble des groupes expérimentaux aussi bien avant qu'après la période de traitement (Tableau 12).

Tableau 12 : Exploration et état d'anxiété des animaux dans le labyrinthe en croix surélevé avant et après une exposition au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours).

		Dose de BDE-99 (µg/kg/jour)				K-W (ddl = 3)
		0	0,15	1,5	15	
Entrées en BO	J0	3,0 ± 0,5	3,3 ± 0,9	1,9 ± 0,6	3,0 ± 0,8	H = 1,82 p = 0,61
	J90	2,8 ± 0,8	3,9 ± 0,8	3,0 ± 0,8	2,4 ± 0,4	H = 3,02 p = 0,39
Entrées en BF	J0	16,8 ± 1,4	14,6 ± 2,4	13,4 ± 1,2	14,4 ± 1,6	H = 3,73 p = 0,29
	J90	14,3 ± 0,6	13,1 ± 0,5	14,7 ± 0,7	14,0 ± 0,4	H = 3,26 p = 0,35
Nombre total d'entrées	J0	19,8 ± 1,8	17,9 ± 3,2	15,3 ± 1,6	17,4 ± 2,0	H = 3,55 p = 0,32
	J90	17,0 ± 1,3	17,0 ± 1,1	17,7 ± 0,8	16,4 ± 0,6	H = 1,37 p = 0,71
Pourcentage d'entrées en BO	J0	14,1 ± 2,4	14,1 ± 3,8	10,8 ± 3,3	16,5 ± 3,7	H = 1,11 p = 0,78
	J90	14,7 ± 2,8	21,7 ± 3,2	16,5 ± 3,5	14,6 ± 2,0	H = 4,42 p = 0,22
Temps en BO (s)	J0	15,6 ± 3,1	14,0 ± 5,0	9,1 ± 3,1	22,4 ± 7,8	H = 2,34 p = 0,51
	J90	14,1 ± 4,0	24,7 ± 6,1	16,3 ± 6,2	11,4 ± 3,2	H = 4,17 p = 0,24
Temps en BF (s)	J0	237,3 ± 7,0	243,6 ± 9,7	247,5 ± 3,7	230,0 ± 10,4	H = 1,42 p = 0,70
	J90	221,0 ± 11,9	217,0 ± 7,8 *	211,7 ± 10,1 τ	223,6 ± 5,9	H = 1,10 p = 0,78
Temps au centre	J0	47,1 ± 4,8	42,4 ± 6,7	43,4 ± 3,7	47,6 ± 5,3	H = 0,86 p = 0,83
	J90	64,9 ± 9,5	58,3 ± 6,1	72,0 ± 6,8 *	65,0 ± 4,0	H = 2,47 p = 0,48

Abréviations : BO, Branches ouvertes ; BF, Branches fermées ; K-W, test de Kruskal-Wallis

Les résultats sont exprimés en moyenne ± E.S.M.

* : $p \leq 0,05$; τ : $0,05 < p < 0,10$, statistiquement différent des résultats mesurés à J0 (test de Wilcoxon)

A J0 : n = 8 pour tous les groupes

A J90 : n = 8 pour le groupe Témoin et n = 7 pour chaque groupe traité avec le BDE-99.

3.2. Evolution des performances au sein de chaque groupe

La proportion du nombre d'entrées dans les branches ouvertes lors de la première session de test n'a pas été différente de celle effectuée lors de la deuxième session de test 90 jours plus tard pour l'ensemble des groupes de traitement (Témoin : $z = 0,42$; $p = 0,67$, BDE 0.15 : $z = 1,18$; $p = 0,24$, BDE 1.5 : $z = 1,01$; $p = 0,31$, BDE 15 : $z = 0,17$; $p = 0,87$) (Tableau 12).

Le test apparié de Wilcoxon a montré une diminution significative ou tendant à l'être pour le temps passé en branches fermées chez les animaux des groupes BDE 0.15 et BDE 1.5 ($z = 1,99$; $p = 0,05$ et $z = 1,86$; $p = 0,06$, respectivement) à J90 par rapport à J0 et cela au profit de la zone centrale surtout, concernant les rats du groupe BDE 1.5. En effet, le temps passé

au centre chez les rats de ce groupe a été significativement augmenté après 90 jours de traitements avec le BDE-99 ($z = 2,37$; $p = 0,02$) (Tableau 12).

En résumé, le niveau d'anxiété des animaux traités avec le BDE-99 a été similaire à celui des animaux Témoins. L'activité exploratoire des animaux, évaluée par le nombre total d'entrées dans les branches, n'a pas été modifiée par le traitement au BDE-99.

4. Apprentissage des animaux dans le test d'évitement d'un stimulus lumineux aversif (TESLA)

Le TESLA, qui est un dispositif de conditionnement opérant, a été réalisé avant et à la fin des 90 jours d'administration quotidienne de BDE-99. Dans cette étude, le test s'est déroulé sur 2 jours avec une session dite de test de 10 minutes le premier jour et une session dite de re-test de 20 minutes le deuxième jour.

Concernant l'étude de la capacité des animaux à discriminer les deux leviers, un animal du groupe Témoin et un animal du groupe BDE 0.15 ont été retirés de l'analyse statistique parce qu'ils n'avaient effectué aucun appui sur les pédales ou aucun appui sur le levier actif avant la période de traitement, ne leur laissant aucune possibilité d'apprendre à différencier les deux leviers. Le nombre d'animaux par groupe avant la période de traitement était donc de 7 pour les groupes Témoin et BDE 0.15 et de 8 pour les groupes BDE 1.5 et BDE 15. A la fin de la période de traitement, le nombre d'animaux par groupe pour l'analyse de la discrimination des deux leviers était de 7 pour les groupes Témoins, BDE 1.5 et BDE 15 et de 6 pour le groupe BDE 0.15.

Avant la période de traitement, les animaux des groupes Témoin, BDE 0.15, BDE 1.5 et BDE 15 ont appuyé de façon significative, ou tendant à l'être, plus sur le levier actif que sur le levier inactif lors de la session de 20 minutes de re-test (Témoin : $z = 2,20$; $p = 0,03$, BDE 0.15 : $z = 2,21$; $p = 0,03$, BDE 1.5 : $z = 1,80$; $p = 0,07$ et BDE 15 : $z = 2,02$; $p = 0,04$). Les animaux de tous les groupes ont donc appris à différencier le levier actif du levier inactif (Tableau 13). A la fin de la période de 90 jours de traitement, seuls les rats du groupe BDE 1.5 ont appuyé significativement plus sur le levier actif que sur le levier inactif ($z = 2,21$; $p = 0,03$) lors de la session de 20 minutes de re-test alors qu'ils tendaient à discriminer les leviers. Les animaux des groupes Témoin, BDE 0.15 et BDE 15 différenciaient significativement le levier actif du levier inactif lors du re-test à J0 mais ce n'était plus le cas à J90 ($z = 1,53$; $p = 0,13$, $z = 1,48$; $p = 0,14$ et $z = 1,05$; $p = 0,29$, respectivement) (Tableau 13).

Tableau 13 : Capacité des animaux à discriminer les leviers dans la session de re-test de 20 minutes dans le TESLA avant et à la fin de l'exposition au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j *p.o.*).

		Dose de BDE-99 (µg/kg/jour)			
		0	0,15	1,5	15
LA lumière re-test	J0	11,3 ± 3,0 *	6,0 ± 1,6 *	10,1 ± 2,5 τ	9,1 ± 1,9 *
Li lumière re-test		4,6 ± 0,8	3,3 ± 1,0	5,6 ± 1,1	4,0 ± 1,0
LA lumière re-test	J90	8,3 ± 2,6	5,7 ± 1,6	6,7 ± 1,5 *	6,0 ± 1,8
Li lumière re-test		4,1 ± 0,5	3,7 ± 1,0	4,1 ± 1,0	4,7 ± 1,6

Abréviations : LA, levier actif ; Li, levier inactif

Les résultats sont exprimés en moyenne ± E.S.M.

* : $p < 0,05$; τ : $0,05 < p < 0,10$, LA vs. LI (test de Wilcoxon)

A J0 : $n = 7$ pour les groupes Témoin et BDE 0.15 ; $n = 8$ pour les groupes BDE 1.5 et BDE 15 ;

A J90 : $n = 7$ pour le groupe Témoin, BDE 1.5 et BDE 15 ; $n = 6$ pour le groupe BDE 0.15.

Le nombre total d'appuis sur les deux leviers des animaux traités avec le BDE-99 n'a pas été significativement différent de ceux des animaux Témoins aussi bien avant qu'à la fin de la période de traitement (Tableau 14). Le test apparié de Wilcoxon n'a pas détecté de différence significative du nombre total d'appuis pour l'ensemble des groupes entre J0 et J90 (Témoin : $z = 1,19$; $p = 0,23$, BDE 0.15 : $z = 0,17$; $p = 0,87$, BDE 1.5 : $z = 1,57$; $p = 0,12$ et BDE 15 : $z = 1,36$; $p = 0,18$, respectivement). Le traitement au BDE-99 n'a donc pas eu d'incidence sur l'activité des animaux dans le TESLA.

Tableau 14 : Appuis totaux sur les leviers dans la session de re-test de 20 minutes dans le TESLA avant et à la fin de l'exposition au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j *p.o.*).

		Dose de BDE-99 (µg/kg/jour)				K-W (ddl = 3)
		0	0,15	1,5	15	
Appuis totaux sur	J0	34,5 ± 9,4	19,5 ± 6,7	37,8 ± 9,3	34,4 ± 7,6	H = 3,48 $p = 0,32$
les 2 leviers	J90	26,0 ± 7,6	18,3 ± 5,6	22,6 ± 7,1	17,7 ± 4,5	

Abréviations : K-W, test de Kruskal-Wallis

Les résultats sont exprimés en moyenne ± E.S.M.

AJ0 : $n = 8$ pour tous les groupes ;

A J90 : $n = 8$ pour le groupe Témoin et $n = 7$ pour chaque groupe traité avec le BDE-99)

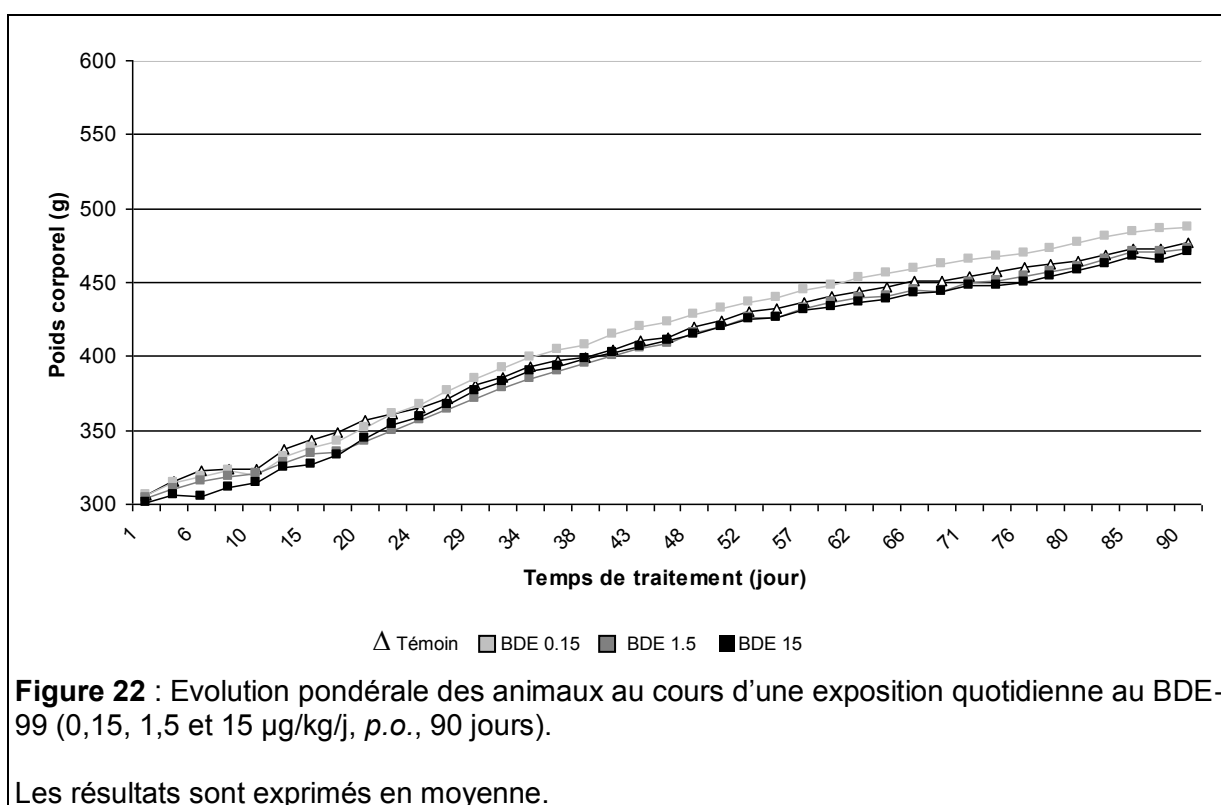
En résumé, le traitement avec le BDE-99 n'a pas eu d'incidence sur l'activité globale des animaux. On ne peut pas conclure sur l'effet du BDE-99 sur les capacités d'apprentissage des animaux puisque les rats de tous les groupes parvenaient à discriminer les leviers avant la période de traitement et que seuls ceux du groupe BDE 1.5 discriminaient encore ces leviers à la fin des 90 jours d'administration. Aucune conclusion n'a pu être tirée de ce

résultat sachant que les animaux du groupe Témoin ne discriminaient plus non plus le levier actif du levier inactif après la période de traitement.

II. Mesures physiologiques

1. Evolution pondérale

Les animaux ont été pesés trois fois par semaine tout au long de l'étude afin de suivre l'évolution de leur prise de poids (Figure 22). Les courbes de poids des animaux de tous les groupes se superposent même si celle des animaux traités à la plus faible dose de BDE-99 se situe sensiblement au-dessus de celle des autres groupes.



Les données de poids des rats avant et à la fin des 90 jours de traitement ainsi que leur gain de poids sur l'ensemble de la période de traitement sont présentés dans le tableau 15.

Tableau 15 : Poids corporel et gain de poids des animaux au cours d'une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours).

		Dose de BDE-99 (µg/kg/jour)				K-W (ddl = 3)
		0	0,15	1,5	15	
Poids (g)	J1	306,4 ± 5,5	306,4 ± 5,7	304,4 ± 3,5	300,7 ± 2,8	H = 2,62 p = 0,45
	J90	476,8 ± 12,4	487,4 ± 13,5	472,6 ± 6,4	470,6 ± 8,9	H = 1,35 p = 0,72
Gain de poids (g)	J1-J90	170,4 ± 8,2	181,0 ± 9,7	168,1 ± 5,4	169,9 ± 7,9	H = 1,21 p = 0,75

Abréviations : K-W, test de Kruskal-Wallis

Les résultats sont exprimés en moyenne ± E.S.M.

A J1 : n = 8 pour tous les groupes

A J91 : n = 8 pour le groupe Témoin et n = 7 pour chaque groupe traité avec le BDE-99.

Aucune différence significative de poids n'a été observée entre les animaux traités avec le BDE-99 et ceux du groupe Témoin à J1, juste avant le premier traitement, ni à la fin des 90 jours de traitement (Tableau 15) ainsi que tout au long de l'étude. Le gain de poids, de J1 et J90, des animaux Témoin n'a également pas été significativement différent de ceux traités avec le BDE-99 [$H_{(ddl = 3)} = 1,21$; $p = 0,75$] (Tableau 15).

En résumé, le traitement au BDE-99 à ces doses n'a eu aucune incidence sur la prise de poids des animaux.

2. Evolution des prises alimentaire et hydrique

Les prises alimentaire et hydrique des animaux ont été relevées 3 fois par semaine pour mesurer leurs quantités de nourriture et d'eau ingérées tout au long de l'étude.

2.1. Prise alimentaire

La figure 23 montre l'évolution de la prise alimentaire des animaux tout au long des 12 semaines de traitement. La prise alimentaire, exprimée en g par kg de poids corporel, de l'ensemble des groupes d'animaux a diminué au cours du temps jusqu'à se stabiliser lors des semaines 11 et 12.

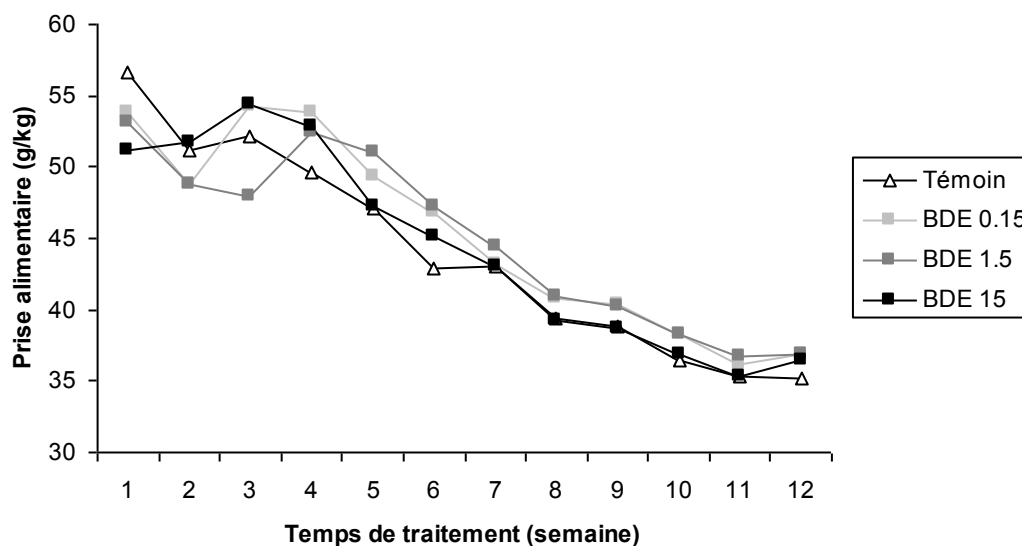


Figure 23 : Evolution de la prise alimentaire des animaux au cours d'une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, p.o., 90 jours).

Les résultats sont exprimés en moyenne.

Aucune différence significative n'a été observée entre la prise alimentaire des animaux témoins et celle des animaux traités avec le BDE-99 aux 3 doses testées tout au long de la période expérimentale.

2.2. Prise hydrique

La figure 24 montre l'évolution de la prise hydrique des animaux tout au long des 12 semaines de traitement. La prise hydrique, exprimée en g par kg de poids corporel, de l'ensemble des groupes d'animaux a diminué sensiblement au cours du temps.

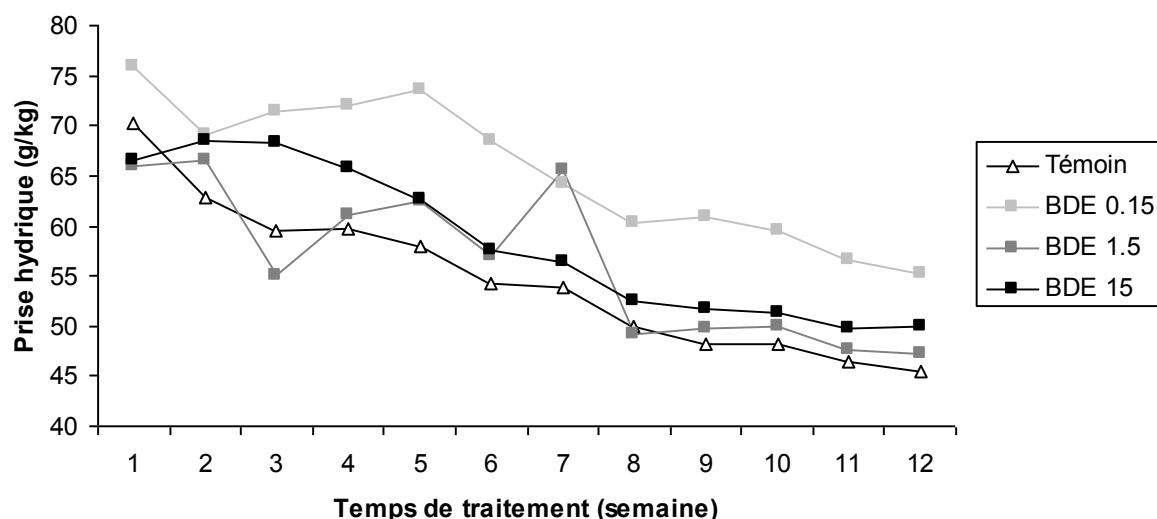


Figure 24 : Evolution de la prise hydrique des animaux au cours d'une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours).

Les résultats sont exprimés en moyenne.

Aucune différence significative de prise hydrique n'a été observée entre les différents groupes de traitement tout au long de la période expérimentale.

En résumé, aucun effet des traitements avec le BDE-99 pendant 90 jours aux 3 doses testées n'a pu être relevé sur l'évolution des prises alimentaire et hydrique des animaux.

3. Taux d'enzymes hépatiques

Les prélèvements de sang ont été effectués au niveau de la queue des animaux à la fin de la période de 90 jours de traitement pour doser certaines enzymes hépatiques telles que l'ASAT, l'ALAT, la GGT et la PA. Une augmentation de leur concentration dans le sang serait synonyme d'atteinte hépatique. Les résultats des dosages sont présentés dans le tableau 16.

Aucune différence significative concernant les taux sanguins d'ASAT, d'ALAT, de GGT ou de PA n'a été observée entre les groupes de traitement (Tableau 16).

Tableau 16 : Concentration en enzymes hépatiques après une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours).

	Dose de BDE-99 (µg/kg/jour)				Kruskal-Wallis (ddl = 3)
	0	0,15	1,5	15	
ASAT (UI/L)	110,1 ± 4,8	107,6 ± 5,7	103,6 ± 5,0	117,4 ± 6,3	H = 3,16 p = 0,37
ALAT (UI/L)	50,8 ± 2,8	51,3 ± 1,6	56,0 ± 2,8	52,7 ± 2,1	H = 1,68 p = 0,64
GGT (UI/L)	4,0 ± 3,5	0,9 ± 0,9	3,6 ± 2,6	8,0 ± 3,9	H = 1,87 p = 0,60
PA (UI/L)	346,5 ± 24,4	343,4 ± 17,9	364,9 ± 15,0	339,9 ± 17,9	H = 1,72 p = 0,63

Les résultats sont exprimés en moyenne ± E.S.M.

n = 8 pour le groupe Témoin et n = 7 pour chaque groupe traité avec le BDE-99.

Le traitement quotidien des animaux avec le BDE-99, aux doses de 0,15, 1,5 et 15 µg/kg n'a pas eu d'effet sur leurs concentrations sériques en ASAT, ALAT, GGT et PA.

4. Poids des organes

A la fin des 90 jours de traitement quotidien, les animaux ont été sacrifiés sous anesthésie et leurs organes prélevés puis pesés. Le poids des organes des animaux pour 100 g de poids corporel sont présentés dans le tableau 17. Aucune différence significative concernant le poids des organes des rats des différents groupes n'a été observée pour le foie, le cerveau, les reins, la rate et le thymus (Tableau 17).

Tableau 17 : Poids des organes (g) pour 100 g de poids corporel des animaux après une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours).

	Dose de BDE-99 (µg/kg/jour)				Kruskal-Wallis (ddl = 3)
	0	0,15	1,5	15	
Foie	2,98 ± 0,09	2,81 ± 0,09	2,80 ± 0,04	2,92 ± 0,10	H = 3,46 p = 0,33
Cerveau	0,41 ± 0,01	0,40 ± 0,01	0,41 ± 0,01	0,42 ± 0,01	H = 3,90 p = 0,27
Reins	0,57 ± 0,01	0,56 ± 0,02	0,58 ± 0,02	0,58 ± 0,01	H = 1,46 p = 0,69
Rate	0,21 ± 0,01	0,23 ± 0,01	0,23 ± 0,02	0,21 ± 0,01	H = 1,83 p = 0,61
Thymus	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,00	H = 0,89 p = 0,83

Les résultats sont exprimés en moyenne ± E.S.M.

n = 8 pour le groupe Témoin et n = 7 pour chaque groupe traité avec le BDE-99.

En résumé, une exposition de 90 jours au BDE-99 n'a eu aucune incidence sur le poids du foie, du cerveau, des reins, de la rate et du thymus des animaux des différents groupes.

5. Concentration en BDE-99 dans le tissu adipeux

Après le sacrifice des animaux, du tissu adipeux a été prélevé sur l'ensemble des rats pour permettre le dosage du BDE-99. La concentration en BDE-99, exprimée en ng/g de tissu adipeux, est reportée dans le tableau 18.

Tableau 18 : Concentration en BDE-99 dans le tissu adipeux à la fin de l'exposition de 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j *p.o.*).

	Dose de BDE-99 (µg/kg/jour)			
	0	0,15	1,5	15
[BDE-99] dans le tissu adipeux (ng/g de masse grasse)	0,58	18,40	190,78	1925,67

Ces valeurs de concentration sont proportionnelles aux doses de BDE-99 reçues par les animaux tout au long de la période d'exposition puisque le rapport de 10 existant entre les trois doses administrées a été retrouvé entre ces trois concentrations tissulaires en BDE-99. Une analyse statistique n'a pu être réalisée sur ces valeurs étant donné que les dosages n'ont été effectués que sur un seul échantillon pour chaque groupe.

Etude II : Effets d'une exposition de 90 jours à des doses environnementales de BDE-99 chez le jeune traité à partir du sevrage.

Cette partie de mon travail de thèse a eu pour but d'étudier les effets neurocomportementaux et physiologiques d'un traitement au BDE-99 administré quotidiennement à des doses réalistes pendant une période de 90 jours à de jeunes rats, dont l'organisme est sensé être plus vulnérable aux polluants que celui des animaux adultes (Rice et Barone, 2000, Selevan et al., 2000). Ces rats ont été traités à partir du sevrage, au moment de la phase tardive de maturation cérébrale, période au cours de laquelle les mécanismes de différenciation et synaptogenèse, de gliogenèse et de myélinisation ne sont pas encore terminés (Rice et Barone, 2000).

Les animaux ont été suivis tout au long de l'étude sur le plan physiologique par leur observation quotidienne, les relevés de leur poids et de leurs prise alimentaire et hydrique et sur le plan comportemental par une batterie de tests. A la fin de l'étude, les animaux ont été anesthésiés en vue des prélèvements et euthanasiés afin d'effectuer les prélèvements d'organes et de tissu adipeux.

Aucun signe évident de toxicité liée au BDE-99 n'a été observé tout au long de la période expérimentale. Un rat du groupe Témoin a été victime de cannibalisme au début de l'étude donc le nombre de rats par groupe a été de 7 pour le groupe Témoin et il a été de 8 pour chaque groupe traité avec le BDE-99.

I. Analyse comportementale

Les tests comportementaux ont été réalisés après 28 (J28) et 90 jours (J90) d'administration des traitements (cf. Figure 8 de la partie Matériels et méthodes).

1. Activité locomotrice et exploratoire des animaux dans le test d'open-field

1.1. Comparaison des performances entre les groupes

Les effets d'une administration orale chronique de BDE-99 sur l'activité locomotrice et exploratoire des animaux ont été évalués dans le test d'open-field et sont présentés dans le tableau 19.

L'activité locomotrice et exploratoire des animaux traités au BDE-99 n'a pas été statistiquement différente de celle des animaux Témoins, que l'open-field ait eu lieu après 28 ou 90 jours de traitement. En effet, les différentes variables mesurées telles que le nombre total de cases traversées, le nombre total de redressements, le nombre de passages au

centre et le temps passé au centre étaient homogènes pour tous les groupes expérimentaux (Tableau 19).

Tableau 19 : Activité locomotrice et exploratoire des animaux dans le test d'open-field après une exposition de 28 et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j *p.o.*).

		Dose de BDE-99 (µg/kg/jour)				K-W (ddl = 3)
		0	0,15	1,5	15	
Nombre total de cases traversées	J28	78,7 ± 3,9	75,4 ± 2,0	70,4 ± 5,7	74,8 ± 5,3	H = 4,02 p = 0,26
	J90	52,6 ± 3,3 *	47,8 ± 3,5 *	50,1 ± 3,8 *	52,5 ± 2,7 *	H = 1,19 p = 0,75
Nombre total de redressements	J28	22,3 ± 1,8	19,1 ± 1,5	18,9 ± 1,7	22,1 ± 2,0	H = 3,18 p = 0,36
	J90	18,6 ± 0,9 *	15,8 ± 0,9 *	16,3 ± 1,4 †	17,9 ± 2,1 *	H = 2,82 p = 0,42
Nombre de passages en case centrale	J28	3,0 ± 0,6	4,6 ± 0,8	4,1 ± 0,6	3,6 ± 0,5	H = 2,21 p = 0,53
	J90	3,0 ± 0,7	2,4 ± 0,7 †	3,6 ± 1,0	2,6 ± 0,6 †	H = 0,84 p = 0,84
Temps en case centrale (s)	J28	8,1 ± 1,4	13,0 ± 2,2	10,8 ± 1,4	10,9 ± 1,7	H = 3,65 p = 0,30
	J90	8,6 ± 1,4	11,1 ± 2,7	11,9 ± 2,3	6,8 ± 1,2 *	H = 3,55 p = 0,31

Abréviations : K-W, test de Kruskal-Wallis

Les résultats sont exprimés en moyenne ± E.S.M.

* : $p \leq 0,05$; † : $0,05 < p < 0,10$, statistiquement différent des résultats obtenus à J28 (test de Wilcoxon)

n = 7 pour le groupe Témoin et n = 8 pour chaque groupe traité avec le BDE-99.

1.2. Evolution des performances au sein de chaque groupe

Si on compare maintenant les performances des animaux entre les deux sessions d'open-field, c'est-à-dire entre J28 et J90, une diminution significative du nombre total de case traversées a été observée chez les rats de tous les groupes : Témoin ($z = 2,37$; $p = 0,02$), BDE 0.15 ($z = 2,52$; $p = 0,01$), BDE 1.5 ($z = 2,38$; $p = 0,02$) et BDE 15 ($z = 2,52$; $p = 0,01$). Au cours de la même période, le nombre total de redressements a également diminué de manière significative, ou tendant à l'être, pour tous les groupes : Témoin ($z = 2,00$; $p = 0,05$), BDE 0.15 ($z = 2,38$; $p = 0,02$), BDE 1.5 ($z = 1,76$; $p = 0,08$) et BDE 15 ($z = 2,38$; $p = 0,02$) (Tableau 19).

Le nombre de passages dans la case centrale n'a pas été significativement différent à J90 par rapport à J28 dans les groupes Témoin ($z = 2,00$; $p > 0,99$) et BDE 1.5 ($z = 0,95$; $p = 0,34$). Par contre, une tendance à la diminution de cette variable a été observée dans les deux autres groupes : BDE 0.15 ($z = 1,71$; $p = 0,09$) et BDE 15 ($z = 1,81$; $p = 0,07$). Enfin, seuls les animaux traités à la plus forte dose de BDE-99 ont significativement diminué leur

temps passé au centre du dispositif entre les deux sessions d'open-field ($z = 2,13$; $p = 0,04$) (Tableau 19).

En résumé, l'activité locomotrice des animaux traités avec le BDE-99, quelque soit la dose, n'a pas été différente de celle des animaux Témoins aussi bien après 28 jours de traitement qu'à la fin des 90 jours d'administration.

2. Mémoire spatiale et apprentissage des animaux dans le labyrinthe aquatique de Morris

Les effets d'une administration orale de BDE-99 sur la mémoire spatiale et l'apprentissage des animaux ont été évalués dans la piscine de Morris après 28 et 90 jours de traitement quotidien. L'emplacement de la plate-forme est resté inchangé pendant toute la durée du test.

Dans cette étude, lors des deux sessions de test de la piscine de Morris, c'est-à-dire après une période de 28 ou 90 jours de traitement, les 2 premiers jours ont correspondu aux jours d'acquisition au cours desquels les animaux ont appris à retrouver la plate-forme à raison de 4 essais par jour. Le troisième jour ont eu lieu un re-test le matin ainsi qu'un probe-test l'après-midi.

2.1. Comparaison des performances entre les groupes

La latence moyenne d'accès à la plate-forme des rats traités avec le BDE-99 n'a pas été significativement différente de celle des rats Témoins lors du premier ou du deuxième jour de test aussi bien après 28 jours de traitement (Jour 1 : $H_{(ddl = 3)} = 6,61$; $p = 0,08$, Jour 2 : $H_{(ddl = 3)} = 1,54$; $p = 0,67$) qu'à la fin de la période de 90 jours de traitement (Jour 1 : $H_{(ddl = 3)} = 1,90$; $p = 0,59$, Jour 2 : $H_{(ddl = 3)} = 6,49$; $p = 0,09$).

Lors du probe-test, la latence d'accès à la zone de la plate-forme ainsi que le nombre de passages au niveau de cette zone des rats traités avec le BDE-99 n'ont pas été différents de ceux mesurés chez les rats Témoins après 28 [$H_{(ddl = 3)} = 1,34$; $p = 0,72$ et $H_{(ddl = 3)} = 1,66$; $p = 0,65$, respectivement] ou 90 jours de traitement [$H_{(ddl = 3)} = 6,27$; $p = 0,10$ et $H_{(ddl = 3)} = 2,31$; $p = 0,51$, respectivement]. De même, le nombre d'entrées dans le quadrant cible, qui est le quadrant dans lequel se trouvait la plate-forme, n'a pas été significativement différent entre les quatre groupes de traitement après 28 ou 90 jours de traitement [$H_{(ddl = 3)} = 3,02$; $p = 0,39$ et $H_{(ddl = 3)} = 7,20$; $p = 0,07$, respectivement]. Le temps passé dans ce quadrant n'a pas non plus été significativement différent entre les quatre groupes aussi bien après 28 jours de traitement [$H_{(ddl = 3)} = 0,29$; $P = 0,96$] qu'à la fin de la période d'exposition [$H_{(ddl = 3)} = 1,51$; $P = 0,68$] (Figure 25).

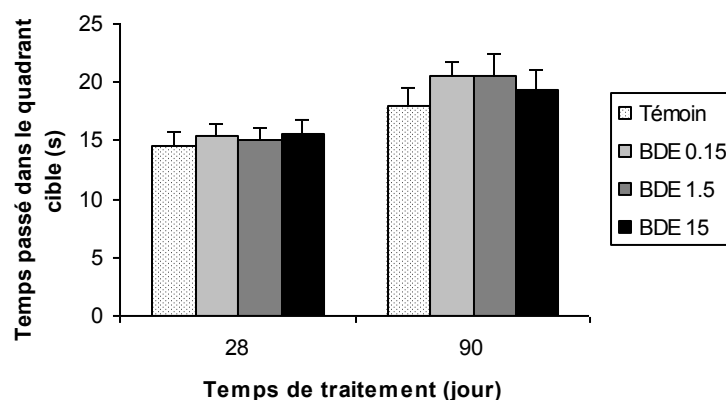


Figure 25 : Temps passé dans le quadrant cible lors du probe-test dans le labyrinthe aquatique de Morris après 28 ou 90 jours d'administration de BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, *p.o.*).

Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ E.S.M.

2.2. Evolution des performances au sein de chaque groupe

Les latences d'accès à la plate-forme, lors du premier essai de chaque jour, après une période de 28 ou 90 jours de traitement sont représentées dans la figure 26. A J28, une amélioration significative des performances en fonction des jours de test a été observée pour les animaux des groupes Témoin ($F = 7,71$; $p = 0,02$), BDE 1.5 ($F = 11,47$; $p = 0,003$) et BDE 15 ($F = 5,87$; $p = 0,05$) mais pas chez ceux du groupe BDE 0.15 ($F = 4,21$; $p = 0,12$). La latence d'accès à la plate-forme lors du premier essai du troisième jour a été significativement inférieure à celle du premier essai du premier jour pour les groupes Témoin ($z = 2,20$; $p = 0,03$), BDE 1.5 ($z = 2,52$; $p = 0,01$) et BDE 15 ($z = 1,96$; $p = 0,05$) (Figure 26).

A la fin de l'exposition, les animaux de tous les groupes de traitement ont significativement amélioré leurs performances en fonction des jours de test : Témoin ($F = 13,56$; $p = 0,001$), BDE 0.15 ($F = 14,25$; $p < 0,001$), BDE 1.5 ($F = 10,52$; $p = 0,005$) et BDE 15 ($F = 8,60$; $p = 0,01$). La latence d'accès à la plate-forme lors du premier essai du troisième jour a en effet été significativement inférieure à celle du premier essai du premier jour pour tous les groupes de traitement : Témoin ($z = 2,38$; $p = 0,02$), BDE 0.15 ($z = 2,53$; $p = 0,01$), BDE 1.5 ($z = 2,52$; $p = 0,01$) et BDE 15 ($z = 2,53$; $p = 0,01$) (Figure 26).

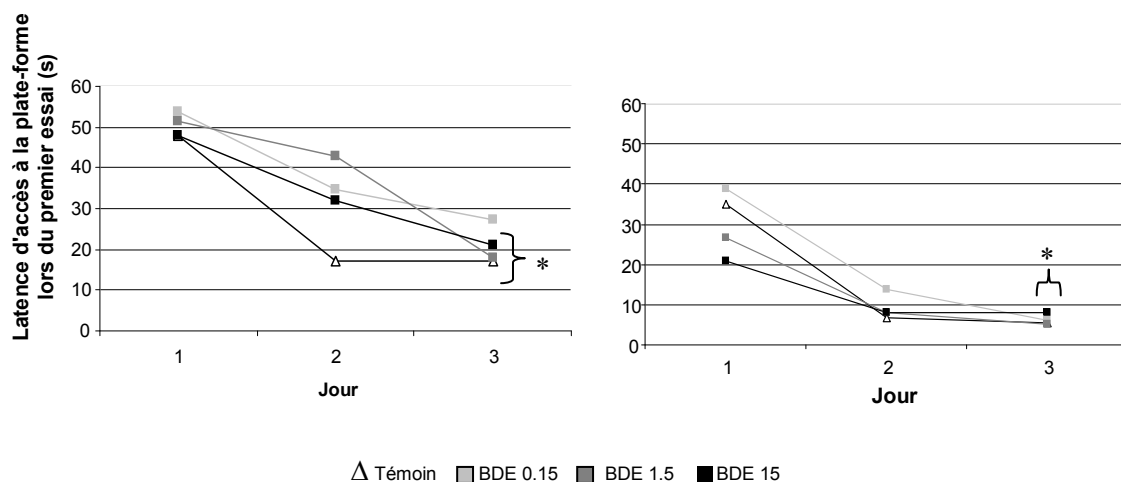


Figure 26 : Latences d'accès à la plate-forme lors du premier essai de chaque jour dans le labyrinthe aquatique de Morris après 28 et 90 jours de traitement au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, *p.o.*).

Les résultats sont exprimés en moyenne.

* : $p \leq 0,05$ (jour 3 vs. jour 1)

La mémoire à long-terme des animaux a pu être évaluée en comparant la latence moyenne d'accès à la plate-forme lors du jour 1 à J28 et celui à J90 (Figure 27).

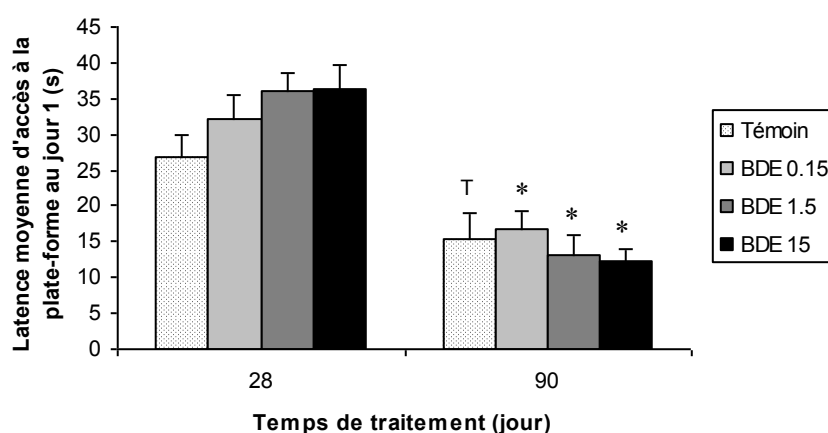


Figure 27 : Latence moyenne d'accès à la plate-forme lors du jour 1 dans le labyrinthe aquatique de Morris après 28 et 90 jours de traitement au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, *p.o.*).

Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ E.S.M.

* : $p < 0,05$; T : $0,05 < p < 0,10$, statistiquement différent des résultats mesurés à J28.

Une amélioration significative, ou tendant à l'être, des performances entre J28 et J90 a été observée chez les animaux des groupes Témoin ($z = 1,86$; $p = 0,06$), BDE 0.15 ($z = 2,20$; $p = 0,03$), BDE 1.5 ($z = 2,52$; $p = 0,01$) et BDE 15 ($z = 2,52$; $p = 0,01$) (Figure 27).

En résumé, les résultats obtenus dans le labyrinthe aquatique de Morris ont montré que les animaux traités avec le BDE-99 à partir du sevrage présentaient des performances équivalentes à celles des animaux Témoins après une période de 28 jours ou de 90 jours de traitement.

3. Niveau d'anxiété des animaux dans le labyrinthe en croix surélevé

3.1. Comparaison des performances entre les groupes

Le niveau d'anxiété des animaux a été évalué après 28 et 90 jours d'administration de BDE-99 et les résultats sont présentés dans le tableau 20.

L'administration quotidienne des traitements aux animaux pendant 28 ou 90 jours n'a pas entraîné de différence significative entre les groupes concernant le nombre d'entrées dans les branches ouvertes, le nombre d'entrées dans les branches fermées, le temps passé dans les branches ouvertes, le temps passé dans les branches fermées et le temps passé dans la zone centrale (Tableau 20). Le pourcentage du nombre d'entrées en branches ouvertes, reflet du niveau d'anxiété des animaux, et le nombre total d'entrées dans les branches, reflétant l'activité locomotrice et exploratoire des animaux, étaient similaires pour tous les groupes expérimentaux aussi bien après 28 qu'après 90 jours de traitement (Tableau 20).

Tableau 20 : Exploration et état d'anxiété des animaux dans le labyrinthe en croix surélevé après une exposition de 28 et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j *p.o.*).

		Dose de BDE-99 (µg/kg/jour)				K-W (ddl = 3)
		0	0,15	1,5	15	
Entrées en BO	J28	3,1 ± 1,1	3,0 ± 0,7	2,6 ± 1,0	1,6 ± 0,7	H = 2,19 p = 0,53
	J90	0,1 ± 0,1	0,3 ± 0,3	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	H = 0,02 p = 0,99
Entrées en BF	J28	9,9 ± 1,2	11,1 ± 1,4	7,8 ± 1,8	9,8 ± 2,0	H = 2,13 p = 0,55
	J90	11,4 ± 1,3	7,1 ± 1,5	7,5 ± 1,7	7,3 ± 1,9	H = 4,50 p = 0,21
Nombre total d'entrées	J28	13,0 ± 1,4	14,1 ± 1,6	10,4 ± 2,7	11,4 ± 2,6	H = 1,80 p = 0,62
	J90	11,6 ± 1,2	7,4 ± 1,6	7,6 ± 1,8	7,4 ± 1,9	H = 4,56 p = 0,21
Pourcentage d'entrées en BO	J28	23,0 ± 7,2	22,6 ± 4,5	18,1 ± 5,5	9,4 ± 3,9	H = 4,34 p = 0,23
	J90	1,4 ± 1,4 *	1,8 ± 1,8 *	1,1 ± 1,1 *	1,0 ± 1,0 †	H = 0,05 p = 0,99
Temps en BO (s)	J28	27,0 ± 11,6	25,3 ± 6,2	20,4 ± 7,0	12,1 ± 6,1	H = 3,00 p = 0,39
	J90	1,0 ± 1,0 *	1,1 ± 1,1 *	0,4 ± 0,4 *	0,8 ± 0,8 †	H = 0,05 p = 0,99
Temps en BF (s)	J28	210,1 ± 16,6	198,1 ± 16,0	219,4 ± 15,9	238,9 ± 16,6	H = 2,71 p = 0,44
	J90	224,6 ± 13,7	221,8 ± 22,3 *	260,8 ± 10,6 *	242,9 ± 17,4	H = 3,18 p = 0,37
Temps au centre	J28	62,9 ± 8,5	76,6 ± 12,6	60,3 ± 10,6	49,0 ± 12,3	H = 2,86 p = 0,41
	J90	74,4 ± 12,9	77,1 ± 21,7	38,9 ± 10,4	56,4 ± 17,2	H = 3,32 p = 0,34

Abréviations : BO, Branches ouvertes ; BF, Branches fermées ; K-W, test de Kruskal-Wallis

Les résultats sont exprimés en moyenne ± E.S.M.

* : $p \leq 0,05$; † : $0,05 < p < 0,10$, statistiquement différent des résultats à J28 (test de Wilcoxon)

n = 7 pour le groupe Témoin et n = 8 pour chaque groupe traité avec le BDE-99.

3.2. Evolution des performances au sein de chaque groupe

Les animaux de tous les groupes expérimentaux ont diminué de manière significative, ou tendant à l'être, leur proportion du nombre d'entrées dans les branches ouvertes entre J28 et J90 (Témoin : $z = 2,20$; $p = 0,03$, BDE 0.15 : $z = 2,52$; $p = 0,01$, BDE 1.5 : $z = 1,99$; $p = 0,05$, BDE 15 : $z = 1,83$; $p = 0,07$) (Tableau 20).

Le test apparié de Wilcoxon a montré une diminution significative, ou tendant à l'être, du temps passé en branches ouvertes entre J28 et J90 chez les animaux de tous les groupes expérimentaux (Témoin : $z = 2,20$; $p = 0,03$, BDE 0.15 : $z = 2,52$; $p = 0,01$, BDE 1.5 : $z = 1,99$; $p = 0,05$ et BDE 15 : $z = 1,83$; $p = 0,07$). Le temps passé en branches fermées a augmenté entre J28 et J90 chez tous les groupes de traitement mais de façon significative uniquement chez les groupes traités aux doses de 0.15 µg/kg/j ($z = 1,96$; $p = 0,05$) et 1.5 µg/kg/j ($z = 2,10$; $p = 0,04$) de BDE-99 (Tableau 20).

En résumé, les animaux Témoins et ceux traités avec le BDE-99 ont exprimé un niveau d'anxiété similaire. Le traitement au BDE-99 n'a pas non plus induit de modifications de l'activité exploratoire des animaux au regard du nombre total d'entrées dans les différentes branches du labyrinthe qui était homogène pour tous les groupes.

4. Apprentissage des animaux dans le test d'évitement d'un stimulus lumineux aversif (TESLA)

Dans cette étude, le TESLA a été réalisé après 28 et 90 jours d'administration de BDE-99. Après 28 jours de traitement, les animaux traités avec le BDE-99 aux 3 doses ont appuyé significativement plus sur le levier actif que sur le levier inactif après seulement 10 minutes de test (BDE 0.15 : $z = 2,21$; $p = 0,03$, BDE 1.5 : $z = 2,21$; $p = 0,03$ et BDE 15 : $z = 2,05$; $p = 0,04$) et ce, jusqu'à la fin du test (BDE 0.15 : $z = 2,21$; $p = 0,03$, BDE 1.5 : $z = 2,21$; $p = 0,03$ et BDE 15 : $z = 2,25$; $p = 0,02$) contrairement aux animaux Témoins qui n'ont pas discriminé les leviers même après 20 minutes de test ($z = 0,77$; $p = 0,44$) (Tableau 21).

A la fin de la période de 90 jours de traitement, il n'a encore fallu que 10 minutes aux animaux des groupes BDE 0.15, BDE 1.5 et BDE 15 pour apprendre à différencier les deux leviers ($z = 1,99$; $p = 0,05$, $z = 2,31$; $p = 0,02$ et $z = 2,20$; $p = 0,03$, respectivement). Après 20 minutes de test, les animaux traités au BDE-99 appuyaient toujours significativement plus sur le levier actif que sur le levier inactif (BDE 0.15 : $z = 2,25$; $p = 0,02$, BDE 1.5 : $z = 2,21$; $p = 0,03$, BDE 15 : $z = 2,38$; $p = 0,02$) alors que les rats du groupe Témoin tendaient seulement à discriminer les deux leviers ($z = 1,71$; $p = 0,09$) (Tableau 21).

Tableau 21 : Capacité des animaux à discriminer les leviers dans la session de test de 20 minutes dans le TESLA après une exposition de 28 et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j p.o.}$).

		Dose de BDE-99 ($\mu\text{g/kg/jour}$)			
		0	0,15	1,5	15
LA lumière	J28	7,0 $\pm$ 2,5	5,5 $\pm$ 1,9 *	8,6 $\pm$ 2,2 *	8,8 $\pm$ 1,4 *
Li lumière		5,4 $\pm$ 1,2	2,8 $\pm$ 1,1	4,4 $\pm$ 1,0	6,0 $\pm$ 1,3
LA lumière	J90	9,1 $\pm$ 3,4 τ	9,8 $\pm$ 3,3 *	10,1 $\pm$ 2,5 *	10,1 $\pm$ 2,6 *
Li lumière		4,4 $\pm$ 0,9	4,3 $\pm$ 1,1	3,8 $\pm$ 1,0	4,8 $\pm$ 0,7

Abréviations : LA, levier actif ; Li, levier inactif

Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ E.S.M.

* : $p \leq 0,05$, τ : $0,05 < p < 0,10$, LA vs. LI (test de Wilcoxon)

$n = 7$ pour le groupe Témoin et $n = 8$ pour chaque groupe traité avec le BDE-99.

Le nombre total d'appuis sur les deux leviers des animaux traités avec le BDE-99 n'a pas été significativement différent de ceux des animaux Témoins aussi bien après 28 jours de traitement qu'à la fin de la période d'administration (Tableau 22). Le test apparié de Wilcoxon n'a pas détecté de différence significative du nombre total d'appuis pour l'ensemble des groupes entre J28 et J90 (Témoin : $z = 1,35$; $p = 0,18$, BDE 0.15 : $z = 1,89$; $P = 0,06$, BDE 1.5 : $z = 0,56$; $p = 0,57$ et BDE 15 : $z = 0,14$; $p = 0,89$). Seuls les rats du groupe BDE 0.15 ont eu tendance à augmenter leur nombre total d'appuis sur les leviers entre J28 et J90. Le traitement au BDE-99 n'a donc globalement pas eu d'incidence sur l'activité des animaux dans le TESLA.

Tableau 22 : Appuis totaux sur les leviers dans la session de test de 20 minutes dans le TESLA après une exposition de 28 et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$ p.o.).

		Dose de BDE-99 ($\mu\text{g/kg/jour}$)				K-W (ddl = 3)
		0	0,15	1,5	15	
Appuis totaux sur les 2 leviers	J28	26,7 $\pm$ 11,0	18,5 $\pm$ 8,1	38,8 $\pm$ 11,8	34,5 $\pm$ 8,3	H = 4,57 p = 0,21
	J90	35,4 $\pm$ 11,5	31,1 $\pm$ 10,5 τ	34,1 $\pm$ 8,8	37,0 $\pm$ 9,1	H = 0,45 p = 0,93

Abréviations : K-W, test de Kruskal-Wallis

Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ E.S.M.

τ : $0,05 < p < 0,10$, tendance à être différent des résultats mesurés à J28 (test de Wilcoxon).

n = 7 pour le groupe Témoin et n = 8 pour chaque groupe traité avec le BDE-99.

En résumé, l'administration de BDE-99 aux doses testées pendant 28 ou 90 jours aux animaux n'a pas perturbé leur activité globale. Il est difficile de conclure quant à l'effet du BDE-99 sur les capacités d'apprentissage des animaux dans le TESLA car les rats Témoins n'ont pas significativement discriminé le levier actif du levier inactif après 20 minutes de test aussi bien après 28 qu'après 90 jours de traitement. Toutefois, ces animaux tendaient à appuyer plus sur le levier actif que sur le levier inactif à la fin de période d'exposition. De plus, étant donné que les animaux traités au BDE-99 ont tous discriminé très tôt les 2 leviers, lors des 2 sessions de test, la mémoire des animaux ne semble pas avoir été perturbée par l'exposition au BDE-99.

5. Mémorisation des animaux dans le test de reconnaissance sociale

La mémoire des animaux a été testée dans ce test après 28 jours de traitement ainsi qu'à la fin des 90 jours d'administration quotidienne. Les résultats sont présentés dans le tableau 23.

Ce test était composé de 2 phases : une première phase dite de test au cours de laquelle chaque rat de l'étude était mis en présence d'un jeune congénère et une deuxième phase

dite de re-test au cours de laquelle le même jeune rat était présenté à nouveau au même adulte une heure après la phase de test. En cas de troubles mnésiques, le rat de l'étude doit continuer à explorer le jeune congénère comme s'il ne l'avait jamais rencontré auparavant.

L'administration quotidienne des traitements aux animaux pendant 28 jours n'a pas entraîné de différence significative entre les groupes concernant la latence de flairage lors du test et lors du re-test. La durée des flairages n'a pas non plus été différente entre les groupes de traitement lors du test et du re-test à J28 (Tableau 23). Si on compare le re-test au test, la latence de flairage a significativement diminué chez les animaux traités avec la plus forte dose de BDE-99 ($z = 2,12$; $p = 0,03$). La durée des flairages était significativement plus faible lors du re-test par rapport au test pour tous les rats traités avec le BDE-99 (BDE 0.15 : $z = 1,96$; $p = 0,05$, BDE 1.5 : $z = 2,10$; $p = 0,04$ et BDE 15 : $z = 1,96$; $p = 0,05$) mais pas pour le groupe Témoin ($z = 1,36$; $p = 0,18$) (Tableau 23).

Après une période de 90 jours de traitement, aucune différence n'a été observée entre les différents groupes expérimentaux concernant la latence de flairage lors du test ou lors du re-test ainsi que concernant la durée des flairages lors du test ou lors du re-test (Tableau 23). Les animaux du groupe Témoin sont les seuls à avoir diminué significativement leur latence de flairage du test au re-test ($z = 2,12$; $p = 0,03$) tandis que ceux du groupe BDE 1.5 ont significativement diminué leur durée de flairage lors du re-test par rapport au test ($z = 2,03$; $p = 0,04$) (Tableau 23).

Tableau 23 : Mémorisation des animaux dans le test de reconnaissance sociale après une exposition de 28 et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j *p.o.*).

		Dose de BDE-99 (µg/kg/jour)				K-W (ddl = 3)
		0	0,15	1,5	15	
Latence de flairage pendant le test (s)	J28	7,9 ± 4,0	3,3 ± 1,4	5,0 ± 1,5	4,9 ± 1,3	H = 2,01 p = 0,57
Latence de flairage pendant le re-test (s)		4,7 ± 2,5	2,8 ± 1,5	6,0 ± 4,1	1,6 ± 0,3 *	H = 3,26 p = 0,35
Durée des flairages pendant le test (s)	J28	56,0 ± 7,0	43,6 ± 3,8	58,1 ± 7,6	39,8 ± 5,7	H = 4,87 p = 0,18
Durée des flairages pendant le re-test (s)		44,7 ± 4,8	32,9 ± 3,6 *	38,0 ± 5,2 *	27,0 ± 5,4 *	H = 5,26 p = 0,15
Latence de flairage pendant le test (s)	J90	8,9 ± 2,3	10,6 ± 2,6	11,3 ± 5,3	11,6 ± 2,9	H = 1,33 p = 0,72
Latence de flairage pendant le re-test (s)		3,7 ± 0,6 *	11,3 ± 4,4	14,0 ± 3,8	5,9 ± 1,6	H = 6,73 p = 0,08
Durée des flairages pendant le test (s)	J90	48,6 ± 6,9	38,1 ± 5,7	47,1 ± 3,1	36,4 ± 3,3	H = 5,13 p = 0,16
Durée des flairages pendant le re-test (s)		45,9 ± 6,3	29,9 ± 4,0	25,8 ± 6,2 *	31,9 ± 7,1	H = 6,14 p = 0,11

Abréviations : K-W, test de Kruskal-Wallis

Les résultats sont exprimés en moyenne ± E.S.M.

* : $p \leq 0,05$, statistiquement différent des résultats mesurés lors du test (test de Wilcoxon)

n = 7 pour le groupe Témoin et n = 8 pour chaque groupe traité avec le BDE-99.

En résumé, les animaux du groupe Témoin n'ont jamais présenté une diminution significative de la durée des flairages entre le test et le re-test, rendant difficile d'éventuelles conclusions sur l'effet d'un traitement au BDE-99 sur la mémoire des animaux. Cependant, la durée des flairages des animaux traités avec le polluant a toujours été inférieure pendant le re-test par rapport au test et cette diminution était même significative chez tous les groupes traités avec le BDE-99 après 28 jours d'administration ainsi que chez les animaux traités à la dose de 1,5 µg/kg/j à la fin de la période de 90 jours de traitement. La mémoire des animaux ne semble donc pas avoir été perturbée par un traitement de 28 ou 90 jours au BDE-99 aux trois doses testées.

6. Coordination locomotrice des animaux

Les résultats concernant les effets d'une administration orale de faibles doses de BDE-99 sur la coordination locomotrice des animaux sont présentés dans le tableau 24.

6.1. Comparaison des performances entre les groupes

Aucune différence n'a été observée entre les groupes expérimentaux aussi bien après 28 jours qu'après 90 jours d'administration en ce qui concerne la latence pour attraper la tige, le temps pour atteindre la plate-forme, le nombre de chutes et la hauteur maximale atteinte le long de la tige (Tableau 24).

Tableau 24 : Coordination locomotrice des animaux dans le test de la tige filetée après une exposition de 28 et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j *p.o.*).

		Dose de BDE-99 (µg/kg/jour)				K-W (ddl = 3)
		0	0,15	1,5	15	
Latence pour attraper la tige (s)	J28	14,7 ± 3,1	28,0 ± 5,6	26,3 ± 6,6	22,3 ± 3,3	H = 3,07 p = 0,38
	J90	3,3 ± 0,9 *	4,8 ± 1,1 *	7,4 ± 2,3 *	2,9 ± 0,4 *	H = 2,22 p = 0,53
Temps d'atteinte de la plate-forme (s)	J28	76,1 ± 15,6	97,6 ± 14,8	74,3 ± 14,6	83,5 ± 17,9	H = 1,76 p = 0,62
	J90	31,0 ± 6,1	67,8 ± 16,9	34,8 ± 14,8	45,3 ± 17,2	H = 4,21 p = 0,24
Nombre de chutes	J28	0,6 ± 0,2	1,3 ± 0,4	1,3 ± 0,4	1,3 ± 0,5	H = 1,72 p = 0,63
	J90	0,0 ± 0,0 *	0,4 ± 0,2 *	0,5 ± 0,3	0,5 ± 0,2	H = 4,02 p = 0,26
Hauteur maximale atteinte le long de la tige (cm)	J28	54,3 ± 3,7	50,0 ± 2,7	55,0 ± 2,7	48,8 ± 4,0	H = 2,91 p = 0,41
	J90	60,0 ± 0,0	53,8 ± 3,8	58,8 ± 1,3	48,8 ± 6,4	H = 4,64 p = 0,20

Abréviations : K-W, test de Kruskal-Wallis

Les résultats sont exprimés en moyenne ± E.S.M.

* : $p \leq 0,05$, statistiquement différent des résultats mesurés à J28 (test de Wilcoxon)

n = 7 pour le groupe Témoin et n = 8 pour chaque groupe traité avec le BDE-99.

Les animaux du groupe Témoin ont été les seuls à n'avoir fait aucune chute et à s'être tous rétablis sur la plate-forme après 90 jours de traitement contrairement aux rats traités avec le BDE-99.

6.2. Evolution des performances au sein de chaque groupe

Le test apparié de Wilcoxon a montré une diminution significative de la latence pour attrapper la tige entre J28 et J90 chez les animaux de tous les groupes expérimentaux (Témoin : $z = 2,03$; $p = 0,04$, BDE 0.15 : $z = 2,52$; $p = 0,01$, BDE 1.5 : $z = 2,31$; $p = 0,02$ et BDE 15 : $z = 2,52$; $p = 0,01$). Le temps d'atteinte de la plate-forme ainsi que la hauteur maximale atteinte le long de la tige étaient homogène entre J28 et J90 pour l'ensemble des groupes expérimentaux : Témoin ($z = 1,35$; $p = 0,18$ et $z = 1,41$; $p = 0,16$),

BDE 0.15 ($z = 1,75$; $p = 0,08$ et $z = 0,83$; $p = 0,41$), BDE 1.5 ($z = 1,40$; $p = 0,16$ et $z = 1,13$; $p = 0,26$) et BDE 15 ($z = 1,21$; $p = 0,22$ et $z = 0,00$; $p > 0,99$) (Tableau 24).

Les animaux des groupes Témoin et BDE 0.15 ont significativement diminué leur nombre de chutes entre J28 et J90 ($z = 2,00$; $p = 0,05$ et $z = 2,12$; $p = 0,03$) contrairement aux animaux des groupes BDE 1.5 et BDE 15 ($z = 1,30$; $p = 0,19$ et $z = 1,38$; $p = 0,17$) (Tableau 24).

En conclusion, la coordination locomotrice des animaux traités avec le BDE-99 aux 3 doses n'a globalement pas été différente de celle des animaux Témoins aussi bien après 28 jours de traitement qu'à la fin des 90 jours d'administration. Cependant, les animaux traités aux deux plus fortes doses de BDE-99 étaient les seuls à ne pas avoir diminué leur nombre de chutes entre les deux sessions de test.

II. Mesure physiologique

1. Evolution pondérale

Les animaux ont été pesés trois fois par semaine tout au long de l'étude afin de suivre l'évolution de leurs poids (Figure 28). L'évolution pondérale des animaux des différents groupes expérimentaux ont été similaires.

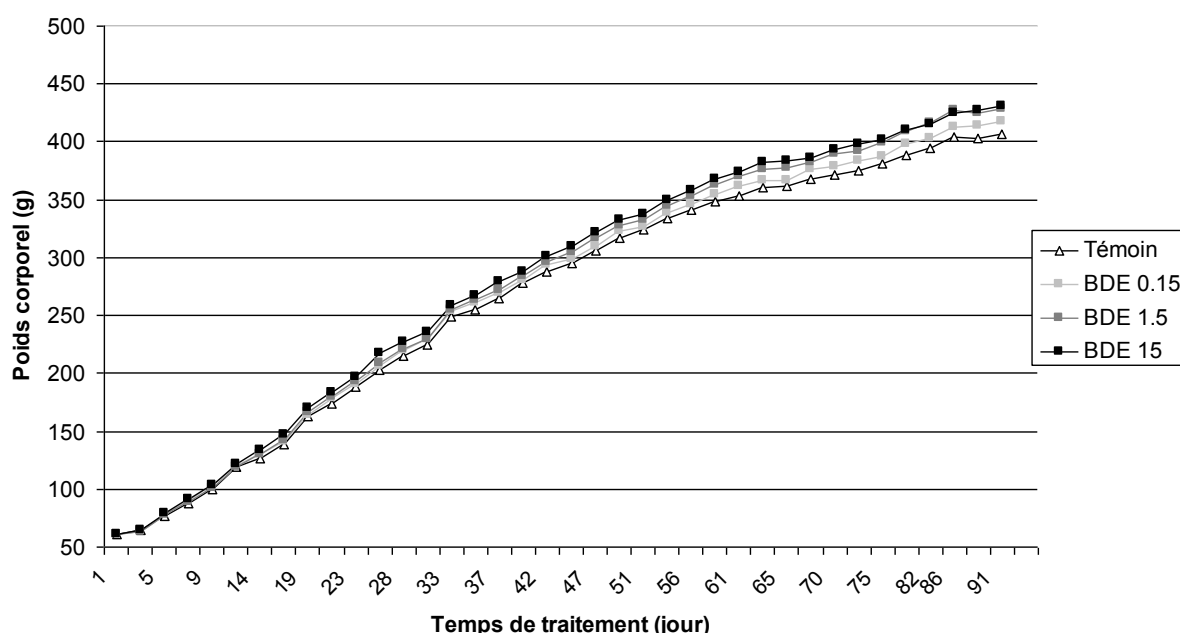


Figure 28 : Evolution pondérale des animaux au cours d'une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, p.o., 90 jours).

Les résultats sont exprimés en moyenne.

Les données de poids des rats au jour 1, c'est-à-dire avant le premier traitement, celles à la fin de la période de 90 jours de traitement (J91) ainsi que le gain de poids des animaux sur l'ensemble de la période de traitement sont présentés dans le tableau 25.

Tableau 25 : Poids corporel et gain de poids des animaux au cours d'une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours).

		Dose de BDE-99 (µg/kg/jour)				K-W (ddl = 3)
		0	0,15	1,5	15	
Poids (g)	J1	61,1 ± 2,0	60,6 ± 1,2	60,6 ± 2,0	60,9 ± 1,8	H = 0,16 p = 0,98
	J91	406,0 ± 14,4	417,0 ± 6,6	429,0 ± 8,6	430,6 ± 6,2	H = 4,54 p = 0,21
Gain de poids (g)	J1-J91	344,9 ± 13,1	356,4 ± 6,2	368,4 ± 8,1	369,8 ± 6,3	H = 3,97 p = 0,26

Abréviations : K-W, test de Kruskal-Wallis

Les résultats sont exprimés en moyenne ± E.S.M.

n = 7 pour le groupe Témoin et n = 8 pour chaque groupe traité avec le BDE-99.

Aucune différence significative de poids n'a été observée entre les animaux traités avec le BDE-99 et ceux du groupe Témoin à J1, à la fin des 90 jours de traitement (Tableau 25) ainsi que tout au long de l'étude. Le gain de poids des animaux Témoin n'a également pas été significativement différent de ceux traités avec le BDE-99 entre J1 et J91 [$H_{(ddl = 3)} = 3,97$; $p = 0,26$] (Tableau 25).

En résumé, le traitement des animaux au BDE-99 aux doses testées n'a eu aucune incidence sur leur prise de poids.

2. Evolution des prises alimentaire et hydrique

Les prises alimentaire et hydrique des animaux ont été relevées 3 fois par semaine pour mesurer leurs quantités de régime et d'eau ingérées tout au long de l'étude. Les prises alimentaire et hydrique n'ont pu être évaluées durant les semaines 4 et 5 en raison de la réalisation des tests comportementaux ces semaines là.

2.1. Prise alimentaire

La figure 29 montre l'évolution de la prise alimentaire des animaux tout au long des 12 semaines de traitement.

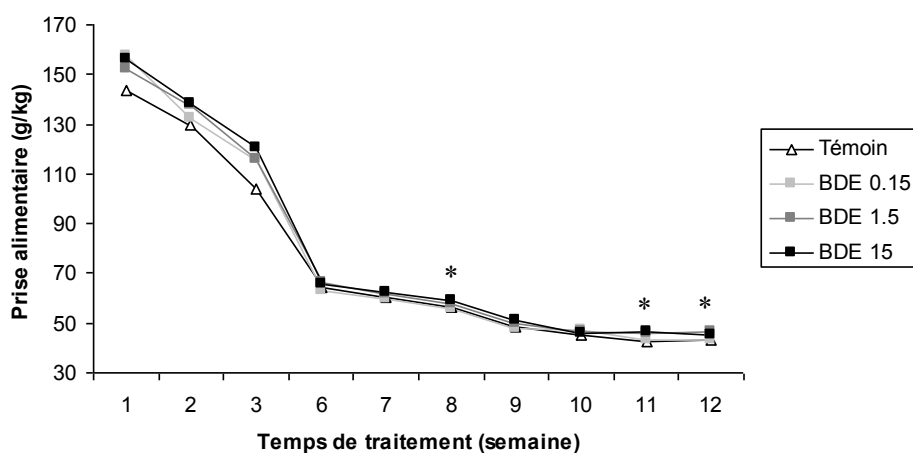


Figure 29 : Evolution de la prise alimentaire des animaux au cours d'une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours) à partir du sevrage.

Les résultats sont exprimés en moyenne.

* : $p < 0,05$, différence statistique entre les 4 groupes de traitement.

La prise alimentaire, exprimée en g par kg de poids corporel, de l'ensemble des groupes d'animaux, a diminué au cours du temps jusqu'à se stabiliser les semaines 11 et 12. Les courbes de l'ensemble des groupes se superposent parfaitement. Cependant, une différence significative a été observée entre les groupes concernant la prise alimentaire durant les semaines 8 [$H_{(ddl = 3)} = 9,89$; $p = 0,02$], 11 [$H_{(ddl = 3)} = 10,01$; $p = 0,02$] et 12 [$H_{(ddl = 3)} = 8,96$; $p = 0,03$] (Figure 29). En effet, les animaux du groupe BDE 15 ont consommé, de façon significative, ou tendant à l'être, plus de nourriture que les animaux Témoin ($U = 0,00$; $p = 0,03$, $U = 0,00$; $p = 0,03$ et $U = 1,00$, $p = 0,08$) lors des semaines 8, 11 et 12, respectivement. La prise alimentaire des animaux traités à la dose intermédiaire tendait à être supérieure à celle des animaux Témoins ($U = 1,00$, $p = 0,08$ et $U = 1,00$, $p = 0,08$) lors des semaines 11 et 12, respectivement.

2.2. Prise hydrique

La figure 30 montre l'évolution de la prise hydrique des animaux tout au long des 12 semaines de traitement. La prise hydrique, exprimée en g par kg de poids corporel, de l'ensemble des groupes d'animaux a diminué au cours du temps jusqu'à se stabiliser les semaines 11 et 12.

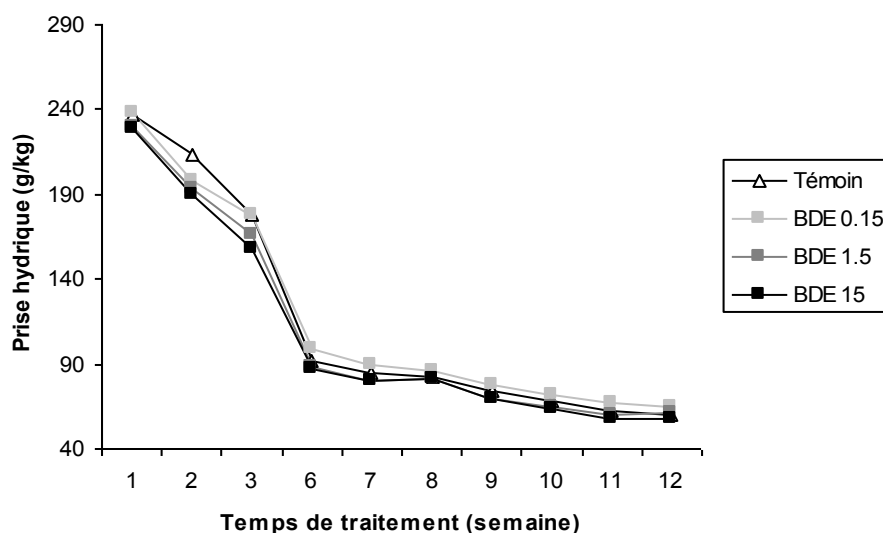


Figure 30 : Evolution de la prise hydrique des animaux au cours d'une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours) à partir du sevrage.

Les résultats sont exprimés en moyenne.

Aucune différence significative de prise hydrique n'a été observée entre les différents groupes de traitement tout au long de la période expérimentale.

En résumé, l'administration de BDE-99 aux doses de 0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j pendant 90 jours n'a globalement pas eu d'incidence sur les prises alimentaire et hydrique des animaux. Cependant, la consommation de nourriture des rats traités aux 2 plus fortes doses a été plus élevée que celle des animaux du groupe Témoin pendant les semaines 8,11 et 12.

3. Poids des organes

A la fin des 90 jours de traitement quotidien, les animaux ont été sacrifiés sous anesthésie et leurs organes prélevés puis pesés. Le poids des organes des animaux pour 100 g de poids corporel sont présentés dans le tableau 26. Aucune différence significative concernant le poids des organes des rats des différents groupes n'a été observée pour le foie, le cerveau, les reins, la rate et le thymus (Tableau 26).

Tableau 26 : Poids des organes (g) pour 100 g de poids corporel des animaux après une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours).

	Dose de BDE-99 (µg/kg/jour)				Kruskal-Wallis (ddl = 3)
	0	0,15	1,5	15	
Foie	2,85 ± 0,08	2,76 ± 0,02	2,78 ± 0,06	2,78 ± 0,05	H = 0,66 p = 0,88
Cerveau	0,44 ± 0,01	0,43 ± 0,01	0,43 ± 0,01	0,42 ± 0,01	H = 2,76 p = 0,43
Reins	0,48 ± 0,02	0,49 ± 0,01	0,49 ± 0,01	0,51 ± 0,01	H = 2,01 p = 0,57
Rate	0,21 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,20 ± 0,01	0,21 ± 0,00	H = 2,00 p = 0,57
Thymus	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,13 ± 0,00	H = 1,31 p = 0,73

Les résultats sont exprimés en moyenne ± E.S.M.

n = 7 pour le groupe Témoin et n = 8 pour chaque groupe traité avec le BDE-99.

En résumé, l'administration de BDE-99 aux doses testées pendant 90 jours n'a eu aucune incidence sur le poids du foie, du cerveau, des reins, de la rate et du thymus des animaux des différents groupes.

Etude III : Effets d'une exposition de 90 jours à des doses environnementales de BDE-99 chez le jeune traité à partir de l'âge de 8 jours.

Cette partie de mon travail de thèse a eu pour but d'étudier les effets neurocomportementaux et physiologiques d'un traitement au BDE-99 administré quotidiennement à des doses réalistes pendant une période de 90 jours à de jeunes rats âgés de 8 jours, dont l'organisme est sensé être plus sensible aux polluants que celui des animaux adultes (Rice et Barone, 2000, Selevan et al., 2000). Cet âge correspond à la période critique de développement rapide du cerveau, phase au cours de laquelle les animaux seraient les plus vulnérables aux polluants (Viberg et al., 2004, 2005; Eriksson et al., 2001, 2002).

Les animaux ont été suivis tout au long de l'étude d'une part sur le plan physiologique par leur observation quotidienne, les relevés de leur poids, de l'ouverture des yeux ainsi que des prise alimentaire et hydrique. Les animaux ont été suivis, d'autre part, sur le plan comportemental par une batterie de tests. A la fin de l'étude, ils ont été anesthésiés en vue des prélèvements et euthanasiés afin d'effectuer les prélèvements d'organes et de tissu adipeux.

Aucun signe évident de toxicité liée au BDE-99 n'a été observé tout au long de la période expérimentale.

I. Analyse comportementale

Certains tests comportementaux ont été réalisés à l'âge de 19 jours (test de coordination locomotrice) soit après 12 jours de traitements (J12), ou à l'âge de 28 jours, c'est-à-dire après 21 jours de traitement (J21) en ce qui concerne le test d'open-field et le test de coordination locomotrice. Une batterie de 6 tests comportementaux a également été réalisée après une période de 60 et 90 jours d'administration des traitements (J60 et J90, respectivement) (cf. Figure 8 de la partie Matériels et méthodes).

1. Activité locomotrice et exploratoire des animaux dans le test d'open-field

1.1. Comparaison des performances entre les groupes

Les effets d'une administration orale chronique de BDE-99 sur l'activité locomotrice et exploratoire des animaux ont été évalués dans le test d'open-field après 21, 60 et 90 jours de traitement. Les résultats sont présentés dans le tableau 27.

Tableau 27 : Activité locomotrice et exploratoire des animaux dans le test d'open-field après une exposition de 21, 60 et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*).

		Dose de BDE-99 (µg/kg/jour)				K-W (ddl = 3)
		0	0,15	1,5	15	
Nombre total de cases traversées	J21	82,5 ± 5,0	81,3 ± 4,5	90,1 ± 4,0	71,5 ± 7,5	H = 5,03 p = 0,17
	J60	78,3 ± 3,8	80,7 ± 2,6	71,8 ± 5,0	71,9 ± 4,0	H = 4,21 p = 0,24
	J90	56,8 ± 3,3 ##	59,9 ± 2,8 ##	58,4 ± 3,5 ##	58,5 ± 2,9 #	H = 0,32 p = 0,96
Nombre total de redressements	J21	21,3 ± 2,6	23,1 ± 1,5	25,4 ± 2,1	21,2 ± 2,8	H = 1,88 p = 0,60
	J60	21,6 ± 0,9	23,4 ± 1,4	21,0 ± 2,5	24,3 ± 2,6	H = 1,57 p = 0,67
	J90	17,6 ± 1,1	21,6 ± 1,3 *	20,1 ± 1,8 †	24,2 ± 2,0 **	H = 9,66 p = 0,02
Nombre de passages en case centrale	J21	3,9 ± 0,6	3,4 ± 0,7	4,5 ± 0,4	4,2 ± 0,8	H = 2,40 p = 0,49
	J60	5,8 ± 0,7	5,4 ± 0,5	3,8 ± 0,5	5,0 ± 0,6	H = 6,53 p = 0,09
	J90	3,3 ± 0,6	3,3 ± 0,8	2,4 ± 0,4 #	3,4 ± 0,6	H = 1,83 p = 0,61
Temps en case centrale (s)	J21	12,4 ± 2,0	12,2 ± 1,7	10,8 ± 1,1	15,9 ± 2,0	H = 4,89 p = 0,18
	J60	11,4 ± 1,1	9,8 ± 1,5	7,3 ± 0,9 **	11,4 ± 1,5	H = 8,81 p = 0,03
	J90	7,1 ± 1,5 #	7,0 ± 1,3 #	6,8 ± 0,9 ##	7,6 ± 0,6 ##	H = 1,16 p = 0,76

Abréviations : K-W, test de Kruskal-Wallis

Les résultats sont exprimés en moyenne ± E.S.M.

** : $p < 0,01$; * : $p \leq 0,05$; † : $0,05 < p < 0,10$, statistiquement différent des résultats mesurés chez le groupe Témoin (test de Mann-Whitney).

: $p \leq 0,01$; # : $p \leq 0,05$, statistiquement différent des résultats mesurés à J21 (test de Wilcoxon).

n = 12 pour l'ensemble des groupes.

L'activité locomotrice et exploratoire des animaux traités au BDE-99 n'a pas été significativement différente de celle des animaux Témoins après 21, 60 ou 90 jours de traitements quelles que soient les variables considérées. En effet, le nombre total de cases traversées, le nombre total de redressements effectués, le nombre de passages au centre ainsi que le temps passé au centre étaient globalement homogène pour l'ensemble des groupes (Tableau 27). Le test de Kruskal-Wallis a seulement mis en évidence une différence significative entre les groupes pour le temps passé au centre à J60 [$H_{(ddl = 3)} = 8,81$; $p = 0,03$] et le nombre de redressement effectués par les animaux après une période de 90 jours de traitement [$H_{(ddl = 3)} = 9,66$; $p = 0,02$]. Les animaux traités à la dose de 1,5 µg/kg/j ont ainsi passé significativement moins de temps au centre que ceux du groupe Témoin ($U = 27,00$; $p = 0,009$) à J60. Les animaux traités avec le BDE-99 aux doses de 0.15, 1.5 et 15 µg/kg/j ont fait plus de redressements que les animaux du groupe Témoin après une période de 90 jours de traitement, variations qui sont significatives ou tendent à l'être selon les groupes (BDE 0.15 : $U = 37,00$; $p = 0,04$, BDE 1.5 : $U = 42,50$; $p = 0,09$ et BDE 15 : $U = 22,00$; $p = 0,004$).

1.2. Evolution des performances au sein de chaque groupe

Le test apparié de Friedman a montré une différence significative du nombre de case traversées entre les différentes sessions d'open-field réalisées à J21, J60 et J90 chez les rats de tous les groupes : Témoin ($F = 12,67$; $p = 0,002$), BDE 0.15 ($F = 11,87$; $p = 0,003$), BDE 1.5 ($F = 15,17$; $p < 0,001$) et BDE 15 ($F = 8,17$; $p = 0,02$). Les animaux de tous les groupes expérimentaux ont en effet significativement diminué leur nombre de cases traversées entre J21 et J90 : Témoin ($z = 2,75$; $p = 0,006$), BDE 0.15 ($z = 2,67$; $p = 0,008$), BDE 1.5 ($z = 2,98$; $p = 0,003$) et BDE 15 ($z = 2,04$; $p = 0,04$) (Tableau 27). Le nombre de redressements a, quant à lui, été homogène à J21, J60 et J90 pour tous les groupes de traitements : Témoin ($F = 2,26$; $p = 0,32$), BDE 0.15 ($F = 0,18$; $p = 0,91$), BDE 1.5 ($F = 4,67$; $p = 0,10$) et BDE 15 ($F = 0,83$; $p = 0,66$).

Une différence significative du nombre de passages au centre a été observée entre J21, J60 et J90 pour les animaux des groupes Témoin ($F = 7,39$; $p = 0,03$), BDE 0.15 ($F = 7,95$; $p = 0,02$) et BDE 1.5 ($F = 9,86$; $p = 0,01$) mais pas pour ceux du groupe BDE 15 ($F = 4,16$; $p = 0,13$). Seuls les animaux du groupe BDE 1.5 ont significativement diminué leur nombre de passages au centre entre J21 et J90 ($z = 2,55$; $p = 0,01$) (Tableau 27). Enfin, le temps passé dans la case centrale a été significativement différent entre J21, J60 et J90 dans tous les groupes : Témoin ($F = 11,87$; $p = 0,003$), BDE 0.15 ($F = 8,67$; $p = 0,01$), BDE 1.5 ($F = 6,84$; $p = 0,03$) et BDE 15 ($F = 10,51$; $p = 0,005$). Les animaux de tous les groupes ont en effet significativement diminué leur temps passé au centre de J21 à J90 (Témoin : $z = 2,05$; $p = 0,04$, BDE 0.15 : $z = 2,32$; $p = 0,02$, BDE 1.5 : $z = 2,51$; $p = 0,01$ et BDE 15 : $z = 2,99$; $p = 0,003$) (Tableau 27).

En résumé, l'activité locomotrice des animaux traités avec les différentes doses de BDE-99 n'a globalement pas été différente de celle des animaux Témoins après 21, 60 ou 90 jours d'administration.

2. Mémoire spatiale et apprentissage des animaux dans le labyrinthe aquatique de Morris

La mémoire spatiale et l'apprentissage des animaux ont été évalués dans la piscine de Morris au bout de 60 et 90 jours d'administration orale de BDE-99. L'emplacement de la plate-forme était resté inchangé pendant toute la durée du test.

Dans cette étude, lors des deux sessions de test, soit après 60 et 90 jours de traitement, les 2 premiers jours ont correspondu aux jours d'acquisition au cours desquels les animaux ont

appris à retrouver la plate-forme à raison de 4 essais par jour. Le troisième jour a eu lieu un re-test le matin ainsi qu'un probe-test l'après-midi.

2.1. Comparaison des performances entre les groupes

La latence moyenne d'accès à la plate-forme des rats traités avec le BDE-99 n'a pas été significativement différente de celle des rats Témoins lors du premier ou du deuxième jour de test et ce aussi bien après 60 jours de traitement (Jour 1 : $H_{(ddl = 3)} = 6,71$; $p = 0,08$, Jour 2 : $H_{(ddl = 3)} = 4,26$; $p = 0,24$) qu'à la fin de la période de 90 jours de traitements (Jour 1 : $H_{(ddl = 3)} = 4,65$; $p = 0,20$, Jour 2 : $H_{(ddl = 3)} = 0,42$; $p = 0,94$).

Dans la phase du probe-test, aucune différence significative n'a été observée entre les rats traités avec le BDE-99 et les rats Témoins concernant la latence d'accès à la zone de la plate-forme et le nombre de passage au niveau de cette zone après 60 jours de traitement [$H_{(ddl = 3)} = 2,00$; $p = 0,57$ et $H_{(ddl = 3)} = 2,29$; $p = 0,51$, respectivement] ni après 90 jours de traitement [$H_{(ddl = 3)} = 4,97$; $p = 0,17$ et $H_{(ddl = 3)} = 6,79$; $p = 0,08$, respectivement]. Le nombre d'entrées dans le quadrant où était située la plate-forme n'a pas été significativement différent entre les quatre groupes de traitement après 60 ou après 90 jours de traitement [$H_{(ddl = 3)} = 0,81$; $p = 0,85$ et $H_{(ddl = 3)} = 7,41$; $p = 0,06$, respectivement].

Le temps passé dans le quadrant cible n'a pas non plus été significativement différent entre les quatre groupes aussi bien après 60 jours de traitement [$H_{(ddl = 3)} = 2,90$; $p = 0,41$] qu'à la fin de la période d'exposition [$H_{(ddl = 3)} = 4,78$; $p = 0,19$] (Figure 31).

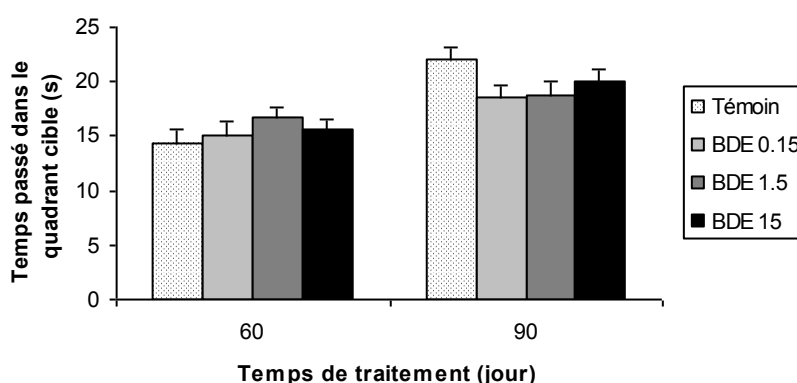


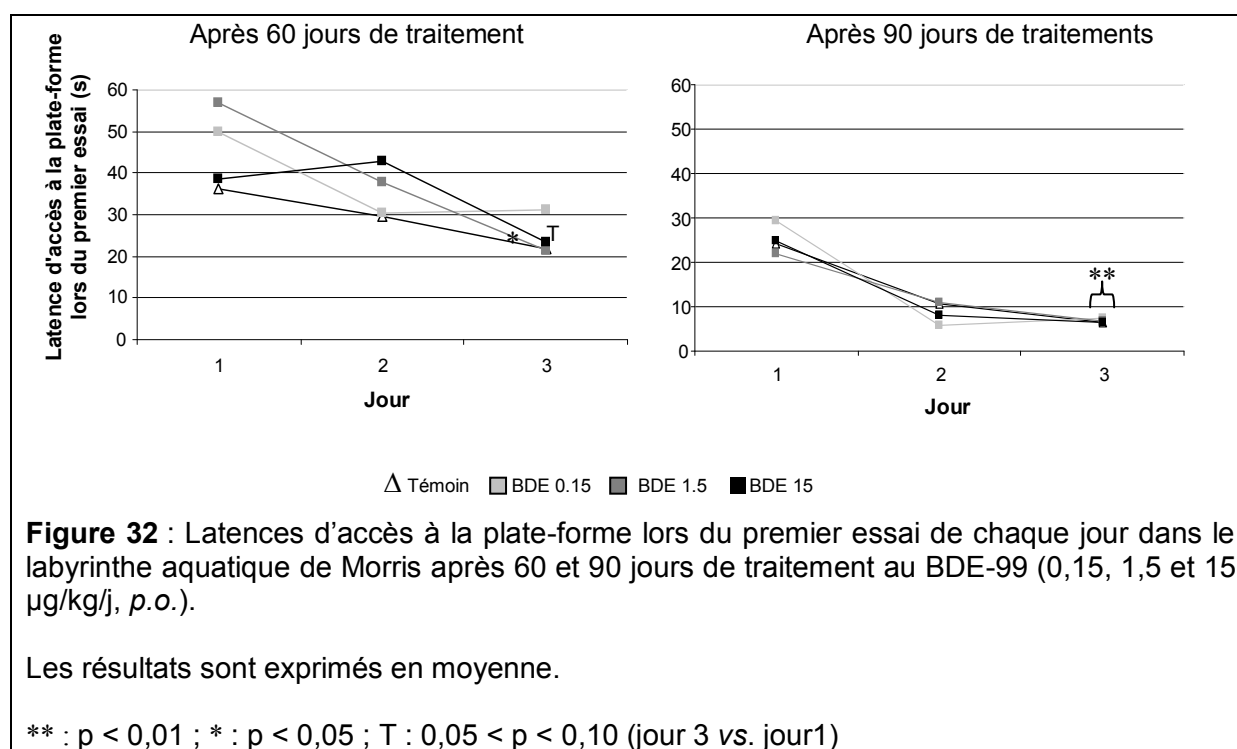
Figure 31 : Temps passé dans le quadrant cible lors du probe-test dans le labyrinthe aquatique de Morris après 60 ou 90 jours d'administration de BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, *p.o.*).

Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ E.S.M.

2.2. Evolution des performances au sein de chaque groupe

Au cours de la première session de test, les latences d'accès à la plate-forme enregistrées lors du premier essai de chaque jour sont représentées dans la figure 32. Une amélioration des performances en fonction des jours de test a été observée pour les animaux des groupes BDE 1.5 ($F = 9,71$; $p = 0,01$) et BDE 15 ($F = 6,18$; $p = 0,05$) contrairement à ceux des groupes Témoin ($F = 2,09$; $p = 0,35$) et BDE 0.15 ($F = 4,13$; $p = 0,13$) après 60 jours de traitements. Seuls les animaux des groupes BDE 1.5 et BDE 15 ont mis moins de temps pour atteindre la plate-forme lors du premier essai du troisième jour par rapport au premier essai du premier jour, variation significative ou tendant à l'être ($z = 2,71$; $p = 0,01$ et $z = 1,87$; $p = 0,06$, respectivement) (Figure 32).

Au cours de la deuxième session de test réalisée après 90 jours d'exposition, les animaux de tous les groupes de traitement ont significativement amélioré leurs performances en fonction des jours de test : Témoin ($F = 19,48$; $p < 0,0001$), BDE 0.15 ($F = 18,78$; $p < 0,0001$), BDE 1.5 ($F = 8,35$; $p = 0,02$) et BDE 15 ($F = 15,85$; $p < 0,001$). La latence d'accès à la plate-forme lors du premier essai du troisième jour a en effet été significativement inférieure à celle du premier essai du premier jour pour tous les groupes de traitement : Témoin ($z = 3,06$; $P = 0,002$), BDE 0.15 ($z = 3,06$; $P = 0,002$), BDE 1.5 ($z = 2,83$; $P = 0,005$) et BDE 15 ($z = 2,94$; $P = 0,003$) (Figure 32).



La mémoire à long-terme des animaux a été évaluée en comparant la latence moyenne d'accès à la plate-forme lors du jour 1 à J60 et celui à J90 (Figure 33).

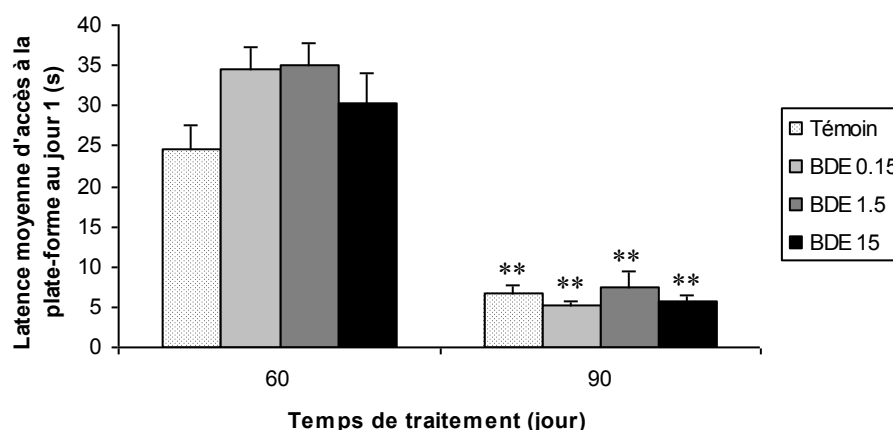


Figure 33 : Latence moyenne d'accès à la plate-forme lors du jour 1 dans le labyrinthe aquatique de Morris après 60 et 90 jours de traitement au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*).

Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ E.S.M.

** : $p < 0,01$, statistiquement différent des résultats mesurés à J60.

Les performances des animaux de tous les groupes se sont améliorées de façon significative entre J60 et J90 : Témoin ($z = 3,06$; $p = 0,002$), BDE 0.15 ($z = 3,06$; $p = 0,002$), BDE 1.5 ($z = 2,98$; $p = 0,003$) et BDE 15 ($z = 2,83$; $p = 0,005$) (Figure 33).

En résumé, les animaux traités avec le BDE-99 à partir de l'âge de 8 jours ont présenté des performances équivalentes à celles des animaux Témoins dans le labyrinthe aquatique de Morris après une période de 60 jours ou de 90 jours de traitement. L'administration orale de BDE-99 aux doses testées pendant 60 ou 90 jours n'a pas engendré d'altération de la mémoire spatiale et de l'apprentissage des animaux.

3. Niveau d'anxiété des animaux dans le labyrinthe en croix surélevé

Les effets d'une administration orale chronique de BDE-99 sur le niveau d'anxiété des animaux ont été évalués dans le test du labyrinthe en croix surélevé après 60 et 90 jours de traitement. En raison d'un problème technique, les résultats de ce test n'ont pu être analysés après les 90 jours d'administration. Les résultats obtenus après 60 jours de traitements sont présentés dans le tableau 28.

Aucune différence significative n'a été observée entre les groupes expérimentaux pour le nombre d'entrées dans les branches ouvertes, le nombre d'entrées dans les branches

fermées, le temps passé dans les branches ouvertes et le temps passé dans les branches fermées (Tableau 28). Le nombre total d'entrées dans les branches, qui reflète l'activité locomotrice et exploratoire des animaux et le pourcentage d'entrées en branches ouvertes, reflet du niveau d'anxiété des animaux, étaient homogènes pour tous les groupes expérimentaux après 60 jours de traitement (Tableau 28). Seul le temps passé dans la zone centrale a été significativement différent entre les 4 groupes [$H_{(ddl = 3)} = 7,67$; $P = 0,05$]. Les animaux Témoins ont ainsi passé significativement plus de temps dans la zone centrale que les animaux des groupes BDE 0.15 ($U = 2,37$; $p = 0,02$), BDE 1.5 ($U = 1,99$; $p = 0,05$) et BDE 15 ($U = 2,08$; $p = 0,04$) (Tableau 28).

Tableau 28 : Exploration et état d'anxiété des animaux dans le labyrinthe en croix surélevé après une exposition de 60 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$ p.o.).

		Dose de BDE-99 ($\mu\text{g/kg/jour}$)				K-W (ddl = 3)
		0	0,15	1,5	15	
Entrées en BO	J60	2,9 $\pm$ 0,7	1,5 $\pm$ 0,4	2,8 $\pm$ 0,8	3,3 $\pm$ 1,1	$H = 1,99$ $p = 0,58$
Entrées en BF	J60	11,9 $\pm$ 1,2	11,0 $\pm$ 1,2	9,5 $\pm$ 1,0	10,5 $\pm$ 1,0	$H = 3,76$ $p = 0,29$
Nombre total d'entrées	J60	14,8 $\pm$ 1,7	12,5 $\pm$ 1,3	12,3 $\pm$ 1,4	13,8 $\pm$ 1,7	$H = 1,92$ $p = 0,59$
Pourcentage d'entrées en BO	J60	16,8 $\pm$ 3,1	11,7 $\pm$ 3,5	20,9 $\pm$ 5,2	17,9 $\pm$ 5,2	$H = 1,79$ $p = 0,62$
Temps en BO (s)	J60	26,5 $\pm$ 9,5	10,9 $\pm$ 3,6	28,2 $\pm$ 9,2	27,4 $\pm$ 10,2	$H = 2,20$ $p = 0,53$
Temps en BF (s)	J60	171,6 $\pm$ 18,8	225,4 $\pm$ 9,2	203,8 $\pm$ 16,4	197,8 $\pm$ 16,5	$H = 6,10$ $p = 0,11$
Temps au centre	J60	101,9 $\pm$ 12,8	63,7 $\pm$ 8,7 *	68,1 $\pm$ 11,0 *	74,8 $\pm$ 8,9 *	$H = 7,67$ $p = 0,05$

Abréviations : BO, Branches ouvertes ; BF, Branches fermées ; K-W, test de Kruskal-Wallis

Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ E.S.M.

* : $p \leq 0,05$, statistiquement différent des résultats mesurés chez le groupe Témoin (test de Mann-Whitney).

n = 12 pour l'ensemble des groupes.

En résumé, les animaux Témoins ainsi que ceux traités avec le BDE-99 ont exprimé un certain niveau d'anxiété au vue de leur faible pourcentage du nombre d'entrées dans les branches ouvertes. Ce niveau d'anxiété a été similaire chez les animaux traités avec le BDE-99 et les animaux Témoins. Le traitement au BDE-99 n'a pas non plus engendré de modifications de l'activité exploratoire des animaux au regard du nombre total d'entrées dans les branches qui était homogène entre les différents groupes expérimentaux.

4. Apprentissage des animaux dans le test d'évitement d'un stimulus lumineux aversif (TESLA)

L'apprentissage des animaux a été évalué dans le TESLA après 60 et 90 jours de traitement au BDE-99.

Après 60 jours de traitement, les animaux traités avec le BDE-99 aux 3 doses ont plus appuyé sur le levier actif que sur le levier inactif après seulement 10 minutes de test, différence significative ou tendant à l'être (BDE 0.15 : $z = 1,96$; $p = 0,05$, BDE 1.5 : $z = 1,70$; $p = 0,09$ et BDE 15 : $z = 2,57$; $p = 0,01$). A la fin des 20 minutes de test, les animaux de tous les groupes ont discriminé le levier actif du levier inactif (Témoin : $z = 2,07$; $p = 0,04$, BDE 0.15 : $z = 2,29$; $p = 0,02$, BDE 1.5 : $z = 2,15$; $p = 0,03$ et BDE 15 : $z = 2,77$; $p = 0,005$) (Tableau 29).

A la fin de la période de 90 jours de traitement, les animaux de tous les groupes de traitements ont appuyé significativement plus sur le levier actif que sur le levier inactif après seulement 10 minutes de test (Témoin : $z = 2,75$; $p = 0,006$, BDE 0.15 : $z = 2,20$; $p = 0,03$, BDE 1.5 : $z = 2,54$; $p = 0,01$, BDE 15 : $z = 2,11$; $p = 0,03$) et ce, jusqu'à la fin des 20 minutes de test (Témoin : $z = 2,68$; $p = 0,007$, BDE 1.5 : $z = 2,23$; $p = 0,03$, BDE 15 : $z = 2,57$; $p = 0,01$) excepté pour les rats du groupe BDE 0.15 qui, étonnamment, n'ont plus discriminé les 2 leviers ($z = 1,48$; $p = 0,14$) alors qu'ils les discriminaient après 10 minutes de test (Tableau 29).

Tableau 29 : Capacité des animaux à discriminer les leviers dans la session de test de 20 minutes dans le TESLA après une exposition de 60 et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, *p.o.*).

		Dose de BDE-99 ($\mu\text{g/kg/jour}$)			
		0	0,15	1,5	15
LA lumière	J60	6,8 $\pm$ 0,8 *	8,5 $\pm$ 1,7 *	8,0 $\pm$ 1,1 *	7,1 $\pm$ 1,2 **
Li lumière		4,4 $\pm$ 0,6	4,8 $\pm$ 1,4	5,1 $\pm$ 0,7	4,0 $\pm$ 0,6
LA lumière	J90	11,4 $\pm$ 1,8 **	9,3 $\pm$ 2,2	10,9 $\pm$ 2,0 *	7,9 $\pm$ 1,0 *
Li lumière		5,8 $\pm$ 0,9	6,4 $\pm$ 1,7	5,9 $\pm$ 0,6	5,2 $\pm$ 0,8

Abréviations : LA, levier actif ; Li, levier inactif

Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ E.S.M.

** : $p \leq 0,01$; * : $p \leq 0,05$, LA vs. LI (test de Wilcoxon).

n = 12 pour l'ensemble des groupes.

Le nombre total d'appuis sur les deux leviers des animaux Témoins et ceux traités avec le BDE-99 était homogène aussi bien après 60 jours de traitement qu'à la fin de la période d'exposition (Tableau 30). Les animaux Témoins et ceux traités à la dose intermédiaire de

BDE-99 ont significativement augmenté leur nombre total d'appuis sur les leviers entre J60 à J90 ($z = 2,79$; $p = 0,005$ et $z = 2,00$; $p = 0,05$, respectivement) contrairement à ceux des autres groupes dont les appuis étaient similaires après 60 et après 90 jours de traitements (BDE 0.15 : $z = 0,04$; $p = 0,96$ et BDE 15 : $z = 0,04$; $p = 0,96$) (Tableau 30).

Tableau 30 : Appuis totaux sur les leviers dans la session de test de 20 minutes dans le TESLA après une exposition de -à et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, *p.o.*).

		Dose de BDE-99 ($\mu\text{g/kg/jour}$)				K-W (ddl = 3)
		0	0,15	1,5	15	
Appuis totaux sur les 2 leviers	J60	26,5 $\pm$ 4,3	35,9 $\pm$ 9,0	31,8 $\pm$ 5,4	29,5 $\pm$ 5,9	H = 0,50 p = 0,92
	J90	47,4 $\pm$ 6,9 **	37,1 $\pm$ 8,6	44,8 $\pm$ 9,3 *	28,8 $\pm$ 4,0	H = 3,83 p = 0,28

Abréviations : K-W, test de Kruskal-Wallis

Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ E.S.M.

** : $p \leq 0,01$; * : $p \leq 0,05$, statistiquement différent des résultats mesurés à J60 (test de Wilcoxon).

n = 12 pour l'ensemble des groupes.

En résumé, l'administration de BDE-99 pendant 60 ou 90 jours n'a pas modifié l'activité des animaux. Aucun effet notable de ce traitement sur les capacités d'apprentissage des animaux n'a été décelé même si ceux traités à la dose de 0,15 $\mu\text{g/kg/j}$ ne discriminaient plus significativement les leviers au bout de 20 minutes de test à J90 puisqu'ils les différenciaient après seulement 10 minutes de test.

5. Mémorisation des animaux dans le test de reconnaissance sociale

Ce test a permis l'évaluation des capacités de mémorisation des animaux après 60 et 90 jours d'administration des traitements. Les résultats sont présentés dans le tableau 31.

Ce test était composé de 2 phases, une phase de test suivi d'une phase de re-test une heure plus tard.

Aucune différence n'a été observée entre les différents groupes expérimentaux concernant la latence de flairage lors du test ou lors du re-test à J60. Par contre, la durée des flairages n'était pas homogène entre les groupes lors du test [$H_{(ddl = 3)} = 9,29$; $p = 0,03$] et lors du re-test [$H_{(ddl = 3)} = 8,26$; $p = 0,04$] à J60. En effet, la durée de flairage des animaux traités aux doses 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$ était significativement inférieure, ou tendait à l'être, à celle des rats Témoin ($U = 25,5$; $p = 0,01$ et $U = 40,0$; $p = 0,06$, respectivement) lors du test. Lors du re-test, seuls les animaux du groupe BDE 1.5 avaient une durée de flairages significativement inférieure à celle des animaux Témoins ($U = 28,00$; $p = 0,01$) à J60 (Tableau 31).

Si on compare le re-test au test, la latence de flairage a significativement diminué chez les animaux traités avec la plus faible dose de BDE-99 ($z = 2,18$; $p = 0,03$) mais pas chez les

autres groupes expérimentaux (Témoin : $z = 1,02$; $p = 0,31$, BDE 1.5 : $z = 1,53$; $p = 0,13$ et BDE 15 : $z = 0,08$; $p = 0,94$). La durée des flairages a significativement diminué lors du re-test par rapport au test pour les groupes Témoins ($z = 2,83$; $p = 0,005$), BDE 1.5 ($z = 1,96$; $p = 0,05$) et BDE 15 ($z = 2,83$; $p = 0,005$) mais pas pour le groupe BDE 0.15 ($z = 1,53$; $P = 0,13$) (Tableau 31).

Après 90 jours de traitement, aucune différence significative n'a été observée entre les différents groupes expérimentaux concernant la latence de flairage lors du test ou lors du re-test ainsi que concernant la durée de flairages lors du test et du re-test (Tableau 31).

Les latences de flairages des animaux de tous les groupes n'ont pas été différentes lors du re-test par rapport au test (Témoin : $z = 0,67$; $p = 0,51$, BDE 0.15 : $z = 1,38$; $p = 0,17$, BDE 1.5 : $z = 1,07$; $p = 0,29$ et BDE 15 : $z = 1,14$; $p = 0,26$). La durée des flairages des animaux de tous les groupes expérimentaux ont diminué pendant le re-test comparé au test mais de façon non significative (Témoin : $z = 0,78$; $p = 0,43$, BDE 0.15 : $z = 1,02$; $p = 0,31$, BDE 1.5 : $z = 0,90$; $p = 0,37$ et BDE 15 : $z = 1,49$; $p = 0,14$).

Tableau 31 : Mémorisation des animaux dans le test de reconnaissance sociale après une exposition de 60 et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*).

		Dose de BDE-99 (µg/kg/jour)				K-W (ddl = 3)
		0	0,15	1,5	15	
Latence de flairage pendant le test (s)	J28	9,4 ± 3,6	14,8 ± 4,2	11,5 ± 2,9	8,1 ± 2,3	H = 1,57 p = 0,67
Latence de flairage pendant le re-test (s)		4,5 ± 1,0	3,6 ± 0,6 *	7,8 ± 1,4	10,7 ± 3,7	H = 5,63 p = 0,13
Durée des flairages pendant le test (s)	J28	65,7 ± 5,6	53,6 ± 3,5	42,3 ± 5,1 #	51,0 ± 4,8 †	H = 9,29 p = 0,03
Durée des flairages pendant le re-test (s)		47,7 ± 4,0 **	44,3 ± 4,1	32,3 ± 5,3 # *	37,3 ± 4,7 **	H = 8,26 p = 0,04
Latence de flairage pendant le test (s)	J90	4,2 ± 0,9	3,9 ± 0,6	14,8 ± 9,4	10,3 ± 5,4	H = 1,13 p = 0,77
Latence de flairage pendant le re-test (s)		9,7 ± 4,0	7,0 ± 2,4	12,3 ± 3,2	3,4 ± 0,5	H = 4,08 p = 0,25
Durée des flairages pendant le test (s)	J90	53,4 ± 7,2	56,3 ± 8,2	37,8 ± 7,3	40,7 ± 5,6	H = 5,03 p = 0,17
Durée des flairages pendant le re-test (s)		43,3 ± 4,8	45,3 ± 5,2	33,1 ± 4,8	32,6 ± 4,4	H = 5,18 p = 0,16

Abréviations : K-W, test de Kruskal-Wallis

Les résultats sont exprimés en moyenne ± E.S.M.

: $p \leq 0,01$; † : $0,05 < p < 0,10$, statistiquement différent des résultats mesurés chez le groupe Témoin (test de Mann-Whitney).

Le test de Wilcoxon a été utilisé pour comparer le re-test au test.

** : $p \leq 0,01$; * : $p \leq 0,05$, statistiquement différent des résultats mesurés lors du test (test de Wilcoxon)

n = 12 pour l'ensemble des groupes.

En résumé, les animaux de tous les groupes avaient une durée de flairages moindre pendant le re-test par rapport au test mais cette différence était significative uniquement après 60 jours et non après 90 jours de traitement, même pour les rats du groupe Témoin. Il n'est pas possible de conclure sur les résultats obtenus lors de la deuxième session de test. Par contre, la mémoire des animaux n'a pas été altérée par une exposition de 60 jours au BDE-99.

6. Coordination locomotrice des animaux

La coordination locomotrice des animaux a été évaluée après 12, 21, 60 et 90 jours d'administration de faibles doses de BDE-99. Les résultats sont présentés dans le tableau 32.

6.1. Comparaison des performances entre les groupes

Après 12 jours de traitement, une différence significative a été observée entre les 4 groupes expérimentaux concernant le temps de rétablissement sur la plate-forme [$H_{(ddl = 3)} = 18,20$; $p < 0,001$] (Tableau 32). En effet, les rats traités avec le BDE-99 aux doses de 0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$ ont mis significativement plus de temps pour atteindre la plate-forme que ceux du groupe Témoin et avec des effets dose-dépendants (BDE 0.15 vs. Témoin : $U = 34,50$; $p = 0,03$, BDE 1.5 vs. Témoin : $U = 15,00$; $p = 0,001$ et BDE 15 vs. Témoin : $U = 10,50$; $p < 0,001$) (Figure 34).

Tableau 32 : Coordination locomotrice des animaux dans le test de la tige filetée après une exposition de 12, 21, 60 et 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$ p.o.).

		Dose de BDE-99 ($\mu\text{g/kg/jour}$)				K-W (ddl = 3)
		0	0,15	1,5	15	
Latence pour attraper la tige (s)	J12	-	-	-	-	
	J21	14,4 $\pm$ 1,9	12,9 $\pm$ 2,8	23,7 $\pm$ 6,4	20,2 $\pm$ 4,3	H = 2,83 p = 0,42
	J60	4,7 $\pm$ 2,6	7,3 $\pm$ 2,3	9,3 $\pm$ 2,7	4,3 $\pm$ 1,0	H = 4,18 p = 0,24
	J90	2,5 $\pm$ 0,8	2,9 $\pm$ 1,1	3,3 $\pm$ 0,6	2,8 $\pm$ 0,6	H = 3,82 p = 0,28
Temps de rétablissement sur la plate-forme (s)	J12	35,8 $\pm$ 6,4	52,8 $\pm$ 5,9 *	74,9 $\pm$ 10,3 **	82,3 $\pm$ 9,1 **	H = 18,20 p < 0,001
	J21	19,9 $\pm$ 5,2	16,1 $\pm$ 2,0	12,9 $\pm$ 1,2	20,0 $\pm$ 5,2	H = 1,75 p = 0,62
	J60	65,6 $\pm$ 14,6	78,1 $\pm$ 12,5	55,8 $\pm$ 11,4 #	82,3 $\pm$ 13,8	H = 1,63 p = 0,65
	J90	40,3 $\pm$ 12,6	67,6 $\pm$ 14,1	45,8 $\pm$ 14,4	67,8 $\pm$ 16,1	H = 2,89 p = 0,41
Nombre de chutes	J12	0,1 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,3	0,3 $\pm$ 0,1	H = 2,39 p = 0,49
	J21	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,1	H = 3,00 p = 0,39
	J60	0,6 $\pm$ 0,3	1,0 $\pm$ 0,3	0,9 $\pm$ 0,3 #	1,6 $\pm$ 0,4 #	H = 3,62 p = 0,31
	J90	0,3 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,2	0,2 $\pm$ 0,1 $\approx$	0,4 $\pm$ 0,2 $\approx$	H = 2,27 p = 0,52
Hauteur maximale atteinte le long de la tige (cm)	J12	60,0 $\pm$ 0,0	57,5 $\pm$ 2,5	50,8 $\pm$ 5,0 *	50,8 $\pm$ 4,3 *	H = 8,13 p = 0,04
	J21	60,0 $\pm$ 0,0	60,0 $\pm$ 0,0	60,0 $\pm$ 0,0	60,0 $\pm$ 0,0	H = 0,00 p = 1,00
	J60	55,0 $\pm$ 1,9 #	50,8 $\pm$ 4,0	56,7 $\pm$ 2,2	50,0 $\pm$ 3,3	H = 3,19 p = 0,36
	J90	54,2 $\pm$ 4,2	45,0 $\pm$ 5,7	49,2 $\pm$ 5,3	45,0 $\pm$ 5,3	H = 1,94 p = 0,59

Abréviations : K-W, test de Kruskal-Wallis

Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ E.S.M.

** : $p \leq 0,001$; * : $p < 0,05$, statistiquement différent des résultats mesurés chez le groupe Témoin (test de Mann-Whitney)

: $p \leq 0,05$, statistiquement différent des résultats mesurés à J12 (test de Wilcoxon)

$\approx$: $p \leq 0,05$, statistiquement différent des résultats mesurés à J60 (test de Wilcoxon)

A J12 : n = 24 pour l'ensemble des groupes ;

A J21, J60 et J90 : n = 12 pour l'ensemble des groupes.

Le test de Kruskal-Wallis a également détecté une différence significative concernant la hauteur maximale atteinte par les rats [$H_{(ddl = 3)} = 8,13$; $p = 0,04$] à J12 (Tableau 32). En effet, ceux des groupes BDE 1.5 et BDE 15 étaient montés significativement moins haut le long de la tige que ceux des groupes Témoins ($U = 48,00$; $p = 0,03$ et $U = 42,000$; $p = 0,02$, respectivement) (Figure 34).

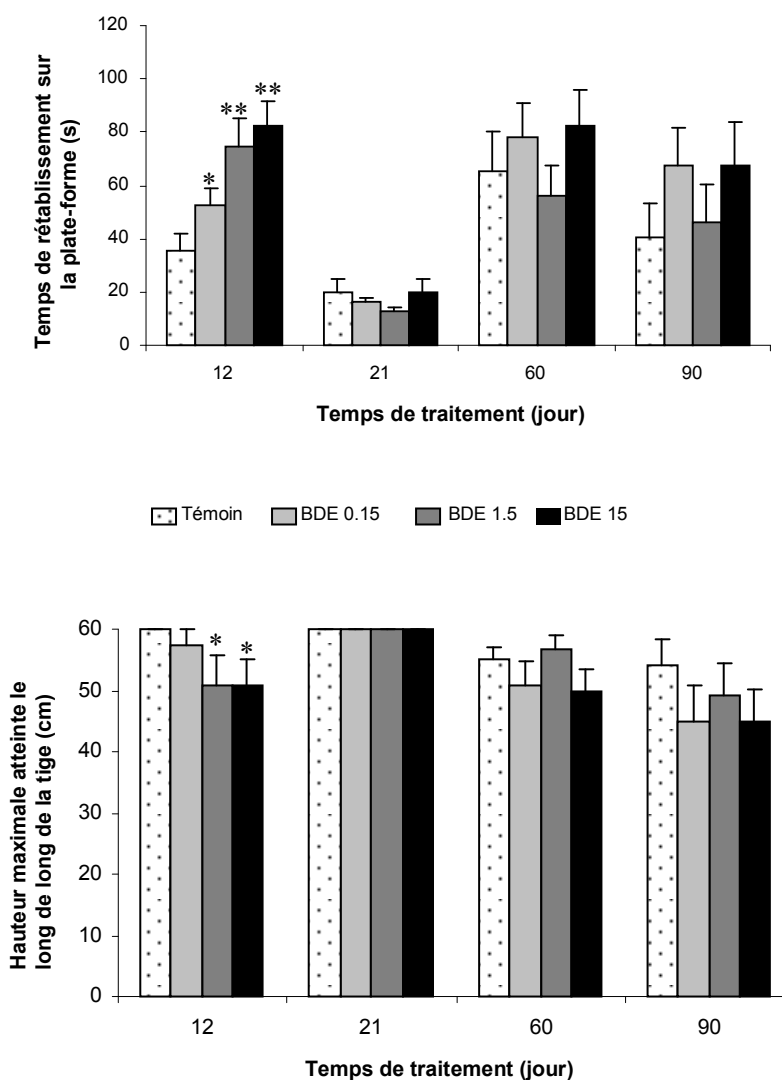


Figure 34 : Coordination locomotrice des animaux dans le test de la tige filetée après une exposition de 12, 21, 60 et 90 au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, *p.o.*).

Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ E.S.M.

** : $p \leq 0,001$; * : $p < 0,05$, statistiquement différent des résultats mesurés chez le groupe Témoin.

Le nombre de chutes a été homogène pour tous les groupes [$H_{(ddl = 3)} = 2,39$; $P = 0,49$]. La latence pour attraper la tige n'a pu être évaluée chez les animaux testés à J12 car étant donné leur jeune âge (19 jours), ils ne parvenaient pas à trouver la tige eux-mêmes et ont dû être guidés par l'expérimentateur jusqu'à celle-ci.

Après 21, 60 et 90 jours d'administration de BDE-99, aucune différence significative n'a été observée entre les groupes quelles que soient les variables considérées. En effet, la latence pour attraper la tige, le temps de rétablissement sur la plate-forme, la hauteur maximale atteinte le long de la tige et le nombre de chutes étaient homogènes pour tous les groupes quel que soit le moment où le test a été conduit (Tableau 32).

6.2. Evolution des performances au sein de chaque groupe

Les résultats mesurés à J28 n'ont pas été inclus pour effectuer les comparaisons des mesures répétées en raison du dispositif qui n'était plus adapté à l'âge des rats rendant le test trop aisé pour ces derniers.

Le test apparié de Friedman a détecté une différence significative du temps de rétablissement sur la plate-forme entre les différents tests réalisés à J12, J60 et J90 seulement pour les rats du groupe BDE 1.5 ($F = 8,60$; $p = 0,01$) et non pour les autres groupes : Témoin ($F = 2,48$; $p = 0,29$), BDE 0.15 ($F = 3,56$; $p = 0,17$) et BDE 15 ($F = 1,56$; $p = 0,46$). Une diminution significative du temps de rétablissement sur la plate-forme a été observée seulement de J12 à J60 pour les rats du groupe BDE 1.5 ($z = 1,99$; $p = 0,05$) (Tableau 32).

Le nombre de chutes a été significativement différent d'une séance de test à l'autre uniquement chez les animaux traités aux deux plus fortes doses de BDE-99 (BDE 1.5 : $F = 7,28$; $p = 0,03$ et BDE 15 : $F = 7,06$; $p = 0,03$) contrairement à ceux des groupes Témoins ($F = 5,00$; $p = 0,08$) et BDE 0.15 ($F = 4,46$; $p = 0,11$). Le test de Wilcoxon a détecté une augmentation significative du nombre de chutes entre J12 et J60 chez les animaux des groupes BDE 1.5 ($z = 2,33$; $p = 0,02$) et BDE 15 ($z = 2,40$; $p = 0,02$) alors qu'une diminution de cette variable a été observée chez les rats de ces groupes entre J60 et J90 (BDE 1.5 : $z = 1,98$; $p = 0,05$ et BDE 15 : $z = 1,96$; $p = 0,05$) (Tableau 32).

Le test apparié de Friedman a détecté une différence significative de la hauteur maximale atteinte le long de la tige uniquement chez les animaux du groupe Témoin ($F = 6,50$; $p = 0,04$) et non chez les autres groupes (BDE 0.15 : $F = 3,58$; $p = 0,17$, BDE 1.5 : $F = 3,60$; $p = 0,17$ et BDE 15 : $F = 1,60$; $p = 0,45$). Une diminution significative de cette variable a uniquement été observée entre J12 et J60 pour les rats du groupe Témoin ($z = 2,12$; $p = 0,03$) (Tableau 32).

En conclusion, les animaux traités avec le BDE-99 dès l'âge de 8 jours ont présenté des déficits dose-dépendants de la coordination locomotrice après 12 jours de traitements. Cependant, ils n'ont plus présenté ces perturbations après 21, 60 et 90 jours d'administration. Le BDE-99 a certainement entraîné des déficits transitoires de la coordination locomotrice des animaux ou un retard dans le contrôle de celle-ci.

II. Mesures physiologiques

1. Ouverture des yeux

L'ouverture des yeux des jeunes est un indice de développement physique puisqu'un retard de celle-ci est révélateur de toxicité sur le plan du développement. Elle a été relevée chez la totalité des petits (96 animaux : $n = 24$ pour l'ensemble des groupes) âgés de 14 à 18 jours. Les résultats sont présentés dans la figure 35.

A l'âge de 14 jours, aucun petit n'avait les yeux ouverts et à 18 jours, la totalité des jeunes avait les 2 yeux ouverts. Afin d'évaluer l'impact d'un traitement au BDE-99 sur l'ouverture des yeux des animaux, un score de 0 a été attribué aux jeunes qui n'avaient pas les deux yeux ouverts et un score de 1 à ceux qui avaient les deux yeux ouverts.

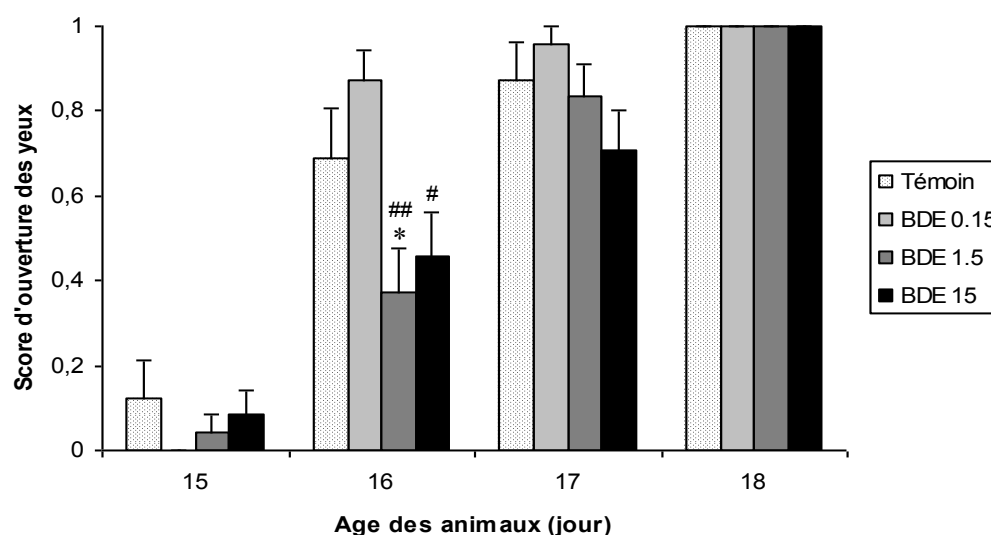


Figure 35 : Score d'ouverture des yeux des animaux entre l'âge de 15 et 18 jours, soit après une exposition de 8 à 11 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, $p.o.$).

Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ E.S.M.

* : $p \leq 0,05$, statistiquement différent des résultats observés chez le groupe Témoin (test de Mann-Whitney).

: $p < 0,01$; ## : $p < 0,001$ (statistiquement différent des résultats observés chez le groupe BDE 0.15 (test de Mann-Whitney).

$n = 16$ pour le groupe Témoin et $n = 24$ pour chaque groupe traité avec le BDE-99.

Le test de Kruskal-Wallis a détecté une différence significative entre les différents groupes concernant le score d'ouverture des yeux des animaux à l'âge de 16 jours [$H_{(ddl = 3)} = 14,83$; $p = 0,002$], différence qui n'a pas été retrouvée à l'âge de 15 ou 17 jours [$H_{(ddl = 3)} = 3,21$; $p = 0,36$ et $H_{(ddl = 3)} = 5,71$; $p = 0,13$]. Le test de Mann-Whitney a montré qu'à l'âge de 16 jours, le score d'ouverture des yeux des rats du groupe BDE 1.5 était significativement plus faible que celui du groupe Témoin ($U = 132,0$; $p = 0,05$) et celui du groupe BDE 0.15 ($U = 144,0$; $p < 0,001$) (Figure 35). En revanche, le score d'ouverture des yeux des animaux du groupe BDE 15, bien que faible, n'a pas différencié statistiquement de celui du groupe Témoin ($U = 148$; $p = 0,16$) mais il était significativement inférieur à celui du groupe BDE 0.15 ($U = 168,0$; $p = 0,002$). A l'âge de 17 jours, même si les résultats n'étaient pas significatifs, il a été observé un score d'ouverture des yeux des jeunes inversement corrélé à la dose de BDE-99 administrée (Figure 35).

En conclusion, au même âge (16 jours), les animaux traités aux deux plus fortes doses de BDE-99 étaient moins nombreux à avoir les deux yeux ouverts par rapport aux animaux des groupes Témoin et BDE 0.15 mais cet écart s'est réduit les jours suivants. Le traitement au BDE-99 aux doses de 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$ à partir de l'âge de 8 jours a induit un retard d'environ une journée de l'ouverture des yeux chez les jeunes.

2. Evolution pondérale

Les jeunes rats ont été pesés tous les jours jusqu'à l'âge de 21 jours puis trois fois par semaine tout au long de l'étude afin de suivre l'évolution de leurs poids (Figure 36). L'évolution pondérale des animaux des différents groupes expérimentaux ont été similaires.

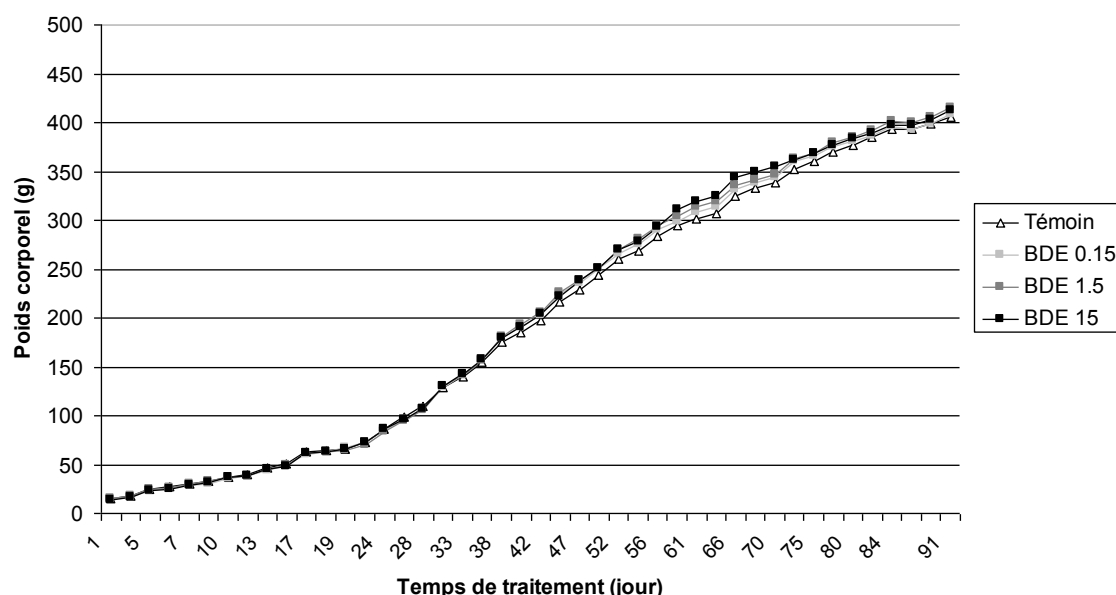


Figure 36 : Evolution pondérale des animaux au cours d'une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours) à partir de l'âge de 8 jours.

Les résultats sont exprimés en moyenne.

Dans le tableau 33 sont présentées les données de poids des animaux à J1, avant le premier traitement et celles à J91 c'est à dire à la fin de cette période d'exposition. Le gain de poids des animaux entre J1 et J91 est également représenté.

Tableau 33 : Poids corporel et gain de poids des animaux au cours d'une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours).

		Dose de BDE-99 (µg/kg/jour)				K-W (ddl = 3)
		0	0,15	1,5	15	
Poids (g)	J1	15,2 ± 0,8	14,5 ± 0,4	14,8 ± 0,4	14,3 ± 0,6	H = 1,85 p = 0,60
	J91	405,8 ± 6,2	407,8 ± 7,8	414,9 ± 8,5	411,7 ± 8,2	H = 1,36 p = 0,71
Gain de poids (g)	J1-J91	390,6 ± 6,1	393,3 ± 7,4	400,1 ± 8,4	397,4 ± 8,0	H = 1,27 p = 0,74

Abréviations : K-W, test de Kruskal-Wallis.

Les résultats sont exprimés en moyenne ± E.S.M.

A J1 : n = 24 pour l'ensemble des groupes ;

A J91 : n = 12 pour l'ensemble des groupes.

Le test de Kruskal-Wallis n'a pas détecté de différence significative de poids entre les groupes à J1, à la fin des 90 jours de traitement (J91) (Tableau 33) ni à aucun autre moment de l'étude. Le gain de poids des animaux Témoin n'a également pas été significativement différent de celui des rats traités avec le BDE-99 de J1 à J91 [$H_{(ddl = 3)} = 1,27$; $p = 0,74$] (Tableau 33).

En résumé, le traitement des animaux avec le BDE-99 aux doses testées pendant 90 jours n'a eu aucune incidence sur leur prise de poids.

3. Evolution des prises alimentaire et hydrique

Les prises alimentaire et hydrique des animaux ont été relevées 3 fois par semaine pour mesurer leurs quantités d'aliment et d'eau ingérées tout au long de l'étude. Les prises alimentaire et hydrique n'ont pu être relevées lors des semaines 6, 7, 8, 11 et 12 en raison de la réalisation de tests comportementaux durant ces semaines-là.

3.1. Prise alimentaire

L'évolution de la prise alimentaire des animaux tout au long des semaines de traitement est représentée dans la figure 37.

La prise alimentaire, exprimée en g par kg de poids corporel, de tous les groupes d'animaux a diminué au cours du temps et toutes les courbes de l'ensemble des groupes se superposent parfaitement. Cependant, le test de Kruskal-Wallis a mis en évidence une différence significative entre les groupes concernant la prise alimentaire durant les semaines 3 [$H_{(ddl = 3)} = 13,39$; $p = 0,004$], 4 [$H_{(ddl = 3)} = 9,33$; $p = 0,03$] et 5 [$H_{(ddl = 3)} = 8,03$; $p = 0,05$] (Figure 37). En effet, les animaux du groupe BDE 15 ont consommé significativement plus de nourriture que les animaux Témoin lors des semaines 3, 4 et 5 ($U = 0,00$; $p = 0,02$, $U = 0,00$; $p = 0,02$ et $U = 1,00$, $p = 0,04$, respectivement). La prise alimentaire des animaux du groupe BDE 1.5 a également été significativement plus élevée que celle des animaux Témoin lors des semaines 3, 4 et 5 ($U = 0,00$; $p = 0,02$, $U = 1,00$; $p = 0,04$ et $U = 1,00$, $p = 0,04$, respectivement). La consommation de nourriture des animaux traités à la plus faible dose de BDE-99 était significativement supérieure à celle des animaux Témoins ($U = 1,00$, $p = 0,04$) lors de la semaine 4.

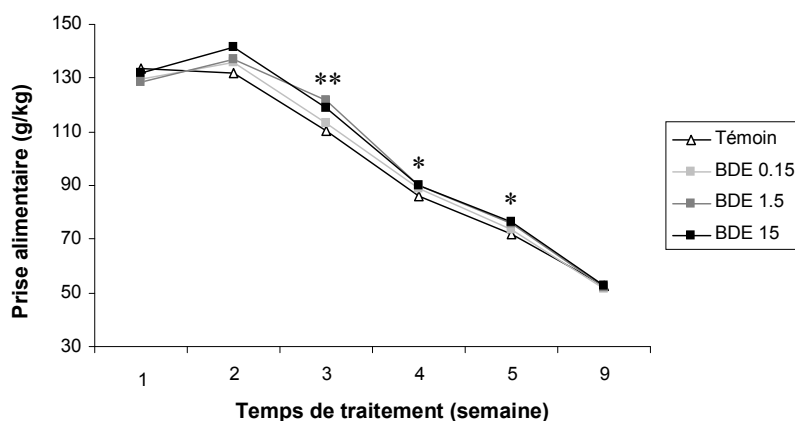


Figure 37 : Evolution de la prise alimentaire des animaux au cours d'une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, *p.o.*, 90 jours).

Les résultats sont exprimés en moyenne.

** : $p < 0,01$; * : $p < 0,05$, différence statistique entre les 4 groupes de traitement.

3.2. Prise hydrique

La figure 38 montre l'évolution de la prise hydrique des animaux au cours du temps.

Les courbes de prise hydrique de l'ensemble des groupes d'animaux a diminué au cours des semaines. Une différence significative a été observée entre les différents groupes de traitement lors des semaines 3 [$H_{(ddl = 3)} = 9,55$; $p = 0,02$] et 4 [$H_{(ddl = 3)} = 7,68$; $p = 0,05$] (Figure 38). En effet, les animaux des groupes BDE 0.15, BDE 1.5 et BDE 15 ont bu, de façon significative ou tendant à l'être, moins d'eau que les animaux du groupe Témoin lors de la semaine 3 ($U = 0,00$; $p = 0,02$, $U = 0,00$; $p = 0,02$ et $U = 0,00$; $p = 0,02$, respectivement) et lors de la semaine 4 ($U = 0,00$; $p = 0,02$, $U = 2,00$; $p = 0,08$ et $U = 2,00$; $p = 0,08$, respectivement).

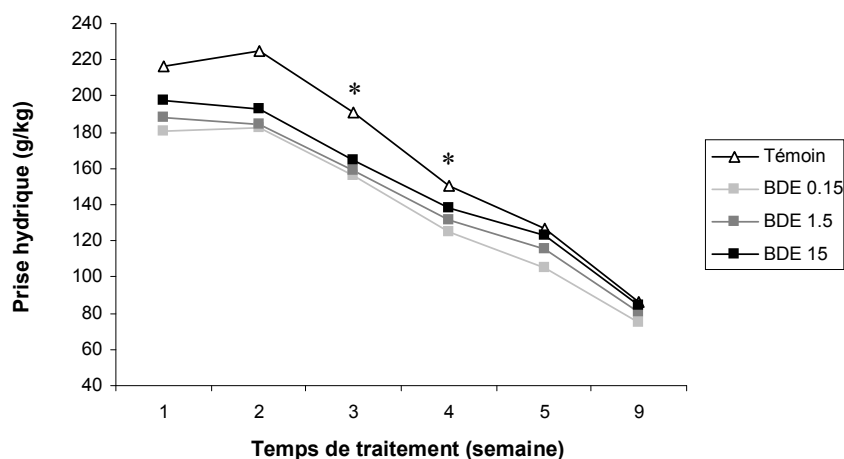


Figure 38 : Evolution de la prise hydrique des animaux au cours d'une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$, *p.o.*, 90 jours).

Les résultats sont exprimés en moyenne.

* : $p \leq 0,05$, différence statistique entre les 4 groupes de traitement.

En résumé, l'administration de BDE-99 aux doses de 0,15, 1,5 et 15 $\mu\text{g/kg/j}$ pendant 90 jours n'a globalement pas eu d'incidence sur les prises alimentaire et hydrique des animaux. Cependant, les animaux traités avec le BDE-99 ont consommé plus de nourriture et moins d'eau que les animaux du groupe Témoin durant les semaines 3 et 4.

4. Poids des organes

Les animaux ont été sacrifiés sous anesthésie à la fin des 90 jours d'administration quotidienne et leurs organes ont été prélevés puis pesés. Le poids des organes des animaux pour 100 g de poids corporel sont présentés dans le tableau 34. Aucune différence significative concernant le poids des organes des rats des différents groupes n'a été observée pour le foie, le cerveau, les reins, et le thymus (Tableau 34).

Tableau 34 : Poids des organes (g) pour 100 g de poids corporel des animaux après une exposition quotidienne au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*, 90 jours).

	Dose de BDE-99 (µg/kg/jour)				Kruskal-Wallis (ddl = 3)
	0	0,15	1,5	15	
Foie	2,89 ± 0,04	2,81 ± 0,05	2,85 ± 0,04	2,95 ± 0,05	H = 6,55 p = 0,09
Cerveau	0,45 ± 0,01	0,46 ± 0,01	0,45 ± 0,01	0,45 ± 0,01	H = 0,95 p = 0,81
Reins	0,47 ± 0,01	0,47 ± 0,01	0,47 ± 0,01	0,48 ± 0,01	H = 1,54 p = 0,67
Rate	0,23 ± 0,01	0,22 ± 0,00	0,23 ± 0,01	0,24 ± 0,01	H = 9,20 p = 0,03
Thymus	0,14 ± 0,01	0,13 ± 0,00	0,14 ± 0,00	0,13 ± 0,00	H = 2,12 p = 0,55

Les résultats sont exprimés en moyenne ± E.S.M.
n = 12 pour l'ensemble des groupes.

Le poids de la rate n'a pas été homogène entre les groupes de traitement [$H_{(ddl = 3)} = 9,20$; $p = 0,03$]. En effet, le poids de la rate des animaux du groupe BDE 0.15 était plus faible que celui des rats Témoins ($U = 41,00$; $p = 0,07$) et celui des rats traités à la plus forte dose de BDE-99 ($U = 24,00$; $p = 0,01$), différences qui étaient significatives ou tendaient à l'être. Le poids de la rate des animaux du groupe BDE 1.5 avait également tendance à être plus faible que celui des rats du groupe BDE 15 ($U = 41,00$; $p = 0,07$) (Figure 39).

Le poids de la rate a augmenté avec la dose de BDE-99 administrée aux animaux. Même si la différence de poids du foie n'était pas significative entre les groupes, on a également observé une augmentation du poids de cet organe avec la dose de BDE-99 (Figure 39).

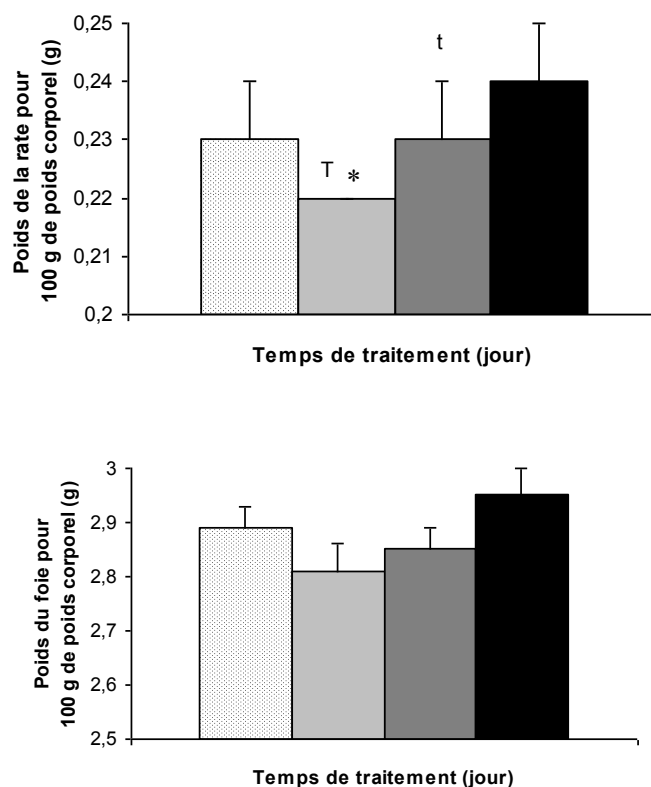


Figure 39 : Poids de la rate et du foie des animaux pour 100 g de poids corporel à la fin de la période d'exposition de 90 jours au BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j, *p.o.*).

Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ E.S.M.

T : $0,05 < p < 0,10$, statistiquement différent des résultats mesurés chez le groupe Témoin (test de Mann-Whitney)

* : $p < 0,05$; t : $0,05 < p < 0,10$, statistiquement différent des résultats mesurés chez le groupe BDE 15 (test de Mann-Whitney)

En résumé, l'administration de BDE-99 aux doses testées pendant 90 jours n'a globalement pas eu d'incidence sur le poids du cerveau, des reins et du thymus des animaux des différents groupes. On a toutefois remarqué une augmentation dose-dépendante du poids de la rate chez les animaux traités avec le BDE-99 ainsi que du foie dans une moindre mesure.

Discussion générale

Les RFBs, dont les PBDEs, ont été massivement utilisés au cours des dernières décennies pour leurs propriétés ignifuges car ils avaient l'avantage d'être très efficaces et bon marché. Ces molécules sont de nos jours retrouvées de façon ubiquitaire dans l'environnement extérieur et intérieur. Du fait de leur caractère persistant, leur concentration dans l'environnement ainsi que dans les matrices animales et humaines (lait, sérum...) a augmenté de façon exponentielle depuis 1972 (Costa and Giordano, 2007 ; Meironyté et al., 1999 ; Rayne et al., 2003) contrairement aux autres POPs tels que les PCBs, les dioxines et les furanes qui eux ont vu leurs concentrations diminuer ces vingt dernières années en raison de leur interdiction dans de nombreux pays (Birnbaum and Staskal, 2004). Les PBDEs suscitent donc de nombreuses inquiétudes tant sur le plan de l'environnement qu'en matière de santé publique.

L'explosion du nombre de pathologies neurodégénératives qui a fortement marqué la dernière décennie ne peut être expliquée uniquement par le vieillissement de la population (Amouyel, 2002 ; Tubiana, 2002). Des facteurs environnementaux tels que les micropolluants sont alors susceptibles d'être mis en cause en tant que facteurs contribuant à l'émergence de ces troubles neurodégénératifs (Wright et Kellers-Byrne, 2005). C'est le cas des PBDEs qui sont connus pour être neurotoxiques. En effet, ils sont responsables d'altérations des fonctions cholinergiques centrales en induisant une diminution du nombre des récepteurs nicotiniques et muscariniques, phénomènes retrouvés à la fois dans la maladie d'Alzheimer et dans la maladie de Parkinson (Eriksson et al., 2001 ; Viberg et al., 2004, 2005). Ils pourraient être également impliqués dans la survenue de la maladie de Parkinson puisqu'ils sont capables d'induire la mort de neurones dopaminergiques (Mariussen et Fonnum, 2003).

1. Justification du modèle d'exposition

Des perturbations des fonctions cérébrales, thyroïdienne, hépatique et reproductrice engendrées par l'exposition aux PBDEs ont été démontrées chez les rongeurs. Toutefois, les PBDEs étaient généralement administrés aux animaux en dose unique et surtout à de très fortes doses allant de 1 mg/kg à plusieurs centaines de mg/kg. Ceci correspond à des doses environ 1000 à 10 000 fois plus élevées que les niveaux d'exposition humaine et ne reflétait pas la pollution à laquelle l'Homme est réellement exposé.

Parmi les nombreux congénères de PBDEs, c'est le BDE-99 qui a été choisi pour nos études car il est l'un des PBDEs les plus toxiques, bioaccumulables et persistants (Darnerud et al. 2001 ; de Wit, 2002 ; Inoue et al., 2006 ; Schecter et al. 2003, 2006b). Il est aussi l'un des

congénères les plus retrouvés dans les matrices environnementales et humaines et l'un des congénères majoritaires du mélange commercial PentaBDE (ou ComPentaBDE) (Birnbaum and Staskal, 2004).

L'objectif de ces travaux de recherche a donc été de déterminer l'impact d'une exposition au BDE-99, dans des conditions d'exposition reflétant la situation humaine c'est-à-dire une exposition de longue durée à des doses faibles s'apparentant à des doses environnementales, sur le devenir neurocomportemental et physiologique du rat. Le but était d'évaluer l'impact réel que peut avoir cette molécule sur l'organisme. Ces approches pourraient permettre de développer un modèle animal de pathologies neurodégénératives induits par l'administration d'un tel polluant, et ce dans le but de pouvoir tester des molécules d'intérêt thérapeutique en prévention et/ ou en traitement de ces pathologies.

L'exposition journalière de l'Homme au BDE-99 étant comprise entre 14 et 140 ng/kg de poids corporel (Jones-Otazo et al., 2005 ; US EPA, 2002), ce sont ces valeurs qui ont été utilisées comme référence dans le choix des doses utilisées dans ces études. Elles ont cependant été multipliées par 10 afin qu'elles soient applicables au métabolisme du rat qui est plus rapide que celui de l'Homme (Allen et al., 1994). Les doses retenues pour nos études ont été de 0,15 et 1,5 µg/kg de poids corporel pour les plus réalistes, auxquelles nous avons ajouté une dose plus élevée supposée toxique qui était de 15 µg/kg.

Trois études portant sur l'impact d'une exposition de longue durée à de faibles doses de BDE-99 ont été réalisées chez des rats de différents âges. Des rats adultes ont tout d'abord été utilisés puisqu'aucune étude n'avait été effectuée chez l'organisme adulte et que l'exposition professionnelle fait partie des sources potentielles importantes d'exposition aux PBDEs. Deux études ont également été réalisées chez le jeune dont l'organisme pourrait être plus sensible à l'exposition aux polluants organiques (Rice et Barone, 2000 ; Selevan et al., 2000). Les animaux ont été traités soit à partir du sevrage soit à partir de l'âge de 8 jours. Les jeunes fraîchement sevrés, étaient âgés de 24 jours au début de l'étude, âge correspondant à la phase tardive de maturation cérébrale chez le rat. A ce stade, les mécanismes de différenciation et synaptogenèse, de gliogenèse et de myélinisation ne sont pas encore terminés (Rice et Barone, 2000). Des animaux de cet âge sont donc sensés être plus sensibles à une intoxication que des animaux adultes. Des traitements ont également été administrés chez des jeunes à partir du 8^{ème} jour de vie postnatale, âge correspondant à la période critique de développement rapide du cerveau qui est la phase au cours de laquelle les animaux seraient les plus vulnérables aux polluants. Des altérations

neurocomportementales avaient en effet été souvent observées chez des rats traités à cet âge (Viberg et al., 2004, 2005 ; Eriksson et al., 2001, 2002, 2006).

L'Homme étant principalement exposé aux PBDEs par le biais de l'alimentation et de l'ingestion de poussières ménagères ou industrielles contaminées, la voie orale est donc celle qui a été retenue pour l'administration du polluant afin de correspondre au mieux aux conditions de contamination réelle chez l'Homme. Devant la nécessité d'administrer aux animaux des doses exactes de polluant, les animaux ont été gavés quotidiennement avec une solution de BDE-99, réalisée avec de l'huile de maïs qui est un véhicule couramment utilisé pour ce genre d'étude (Bellés et al., 2010 ; Branchi et al., 2002, 2005 ; Dufault et al., 2005 ; Dunnick et Nyska, 2009 ; Skarman et al., 2005 ; Tseng et al., 2006, 2008 ; Zhou et al., 2001, 2002). De plus, il est chimiquement inerte, il n'interagit donc pas avec le composé à tester.

Afin de pouvoir comparer les effets observés dans nos trois études, nous avons conservé un certain nombre de paramètres entre celles-ci, comme les doses de BDE-99 administrées aux animaux (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j) ou la durée d'exposition des animaux à ce polluant qui a été de 90 jours, quelle que soit l'étude, et ce pour être en accord avec les durées d'exposition recommandées (OCDE, 1998). Le sexe et la souche de rats ont également été les mêmes dans les 3 études : il s'agissait de rats mâles de souche Sprague-Dawley. Les études réalisées dans la littérature étaient généralement réalisées avec des animaux mâles, il a donc été choisi d'utiliser des rats du même sexe afin de pouvoir comparer les résultats obtenus. De plus, le recours à des animaux mâles a permis d'éviter l'influence des variations hormonales du cycle sur le comportement, comme c'est le cas avec des rats femelles. C'est la souche Sprague-Dawley qui a été utilisée dans nos études car c'est celle qui était la plus souvent utilisée dans la littérature pour ce genre d'études (Bellés et al., 2010 ; Cheng et al., 2009 ; Kim et al., 2009 ; Viberg et al., 2005, 2007) avec la souche Long-Evans, mais aussi parce qu'elle présentait des facilités en terme d'apprentissage (Harker et Whishaw, 2002), en ayant notamment une vitesse d'acquisition supérieure à celle des rats Long-Evans dans le test d'attention appelé tâche de réactions en série à 5 choix (Auclair et al., 2009).

Les tests comportementaux utilisés dans nos 3 études ont été les mêmes afin de pouvoir comparer les études entre elles. Cependant, les tests de reconnaissance sociale et de coordination locomotrice ont été ajoutés lors des deux études chez le jeune afin d'obtenir plus d'éléments sur l'impact du traitement au BDE-99 chez les animaux, notamment en ce qui concerne la coordination locomotrice qui est une fonction qui n'avait pas encore été étudiée au cours de l'étude chez le rat adulte.

Les éléments variant d'une étude à l'autre ont donc été l'âge auquel les animaux ont reçu leur premier traitement ainsi que la durée d'administration à partir de laquelle les tests comportementaux ont été réalisés. Concernant l'étude réalisée chez les rats adultes, des tests ont été effectués avant le début du traitement et après 90 jours de traitement, les animaux constituant alors leur propre témoin. Les animaux traités à partir du sevrage étant trop jeunes pour être testés au niveau de l'apprentissage ou de l'anxiété à l'âge de 24 jours, la batterie de 6 tests a donc été réalisée après une période de 28 jours de traitement avant d'être réalisée également après 90 jours d'administration. Les animaux traités à partir du 8^{ème} jour de vie postnatale étaient quand à eux trop jeunes pour être testés aussi bien avant le début des traitements qu'après 28 jours d'administration, ils ont donc été soumis à la batterie de 6 tests après une période de 60 et de 90 jours de traitement.

2. BDE-99 et activité locomotrice

Des perturbations de l'activité locomotrice des animaux induites par un traitement aux PBDEs ont été observées dans la littérature. En effet, une exposition prénatale ou périnatale de rats Wistar ou de souris CD-1 au BDE-99 aux doses de 60 et 300 µg/kg (Kuriyama et al., 2005) ou de 18 mg/kg (Branchi et al., 2005) a causé une hyperactivité chez la descendance. Des souris NMR1 (Eriksson et al., 2001, 2006 ; Viberg et al., 2004) ou des rats Sprague-Dawley (Viberg et al., 2005) exposés à une dose unique de BDE-99 de 0,8, 8 ou 12 mg/kg à l'âge de 10 jours a entraîné chez ces animaux une altération du comportement spontané se traduisant par une hypoactivité au début du test et une hyperactivité à la fin du test, ces effets empirant avec l'âge des animaux (Eriksson et al., 2001, 2006).

Contrairement aux résultats obtenus dans la littérature, une exposition de longue durée à des doses environnementales de BDE-99 chez des rats traités à l'âge adulte, à partir du sevrage ou à partir de l'âge de 8 jours n'a pas induit d'altérations de l'activité des animaux comme en témoigne l'absence de variation du nombre total de cases traversées et du nombre total de redressements effectués dans le test d'open-field entre les animaux Témoin et ceux traités avec le polluant. De même, Bellés et al. (2010) n'ont observé aucune modification de l'activité locomotrice dans le test d'open-field chez des animaux adultes ayant reçu une dose unique de 0,6 ou 1,2 mg/kg de BDE-99 et testés 45 jours plus tard.

L'activité des animaux dans nos études, évaluée également dans les tests du labyrinthe en croix surélevé par le nombre total d'entrées dans les branches ainsi que dans le TESLA par le nombre total d'appuis sur les leviers, n'a pas été perturbée par ce traitement de 90 jours au BDE-99, quelque soit l'âge des rats au début du traitement.

Cependant, il a été constaté dans le test d'open-field un maintien de l'activité des animaux traités à la forte dose de BDE-99 d'une session de test à une autre chez les rats traités à l'âge adulte.

3. BDE-99, apprentissage et mémoire

Plusieurs études ont mis en évidence des altérations des fonctions de mémorisation et d'apprentissage chez des animaux exposés aux PBDEs dans le test du labyrinthe aquatique de Morris. Des administrations périnatales de BDE-99 à la dose de 2 mg/kg (Cheng et al., 2009) ou de BDE-209 aux doses de 300, 600 et 1200 mg/kg (Wu et al., 2008) ont induit chez les rats des perturbations de l'apprentissage qui se traduisaient par des latence d'accès à la plate-forme plus élevées que chez les animaux Témoins lors de 4 essais consécutifs quotidiens sur plusieurs jours d'affilée. Par contre, Wu et al. (2008) ont montré que l'administration de BDE-209 à la dose de 100 mg/kg au cours de la même période n'induisait aucune variation significative des fonctions d'apprentissage. Des rats et des souris exposés à l'âge de 10 jours à une dose unique de 1, 5 ou 10 mg/kg de BDE-47 ou à une dose de 12 mg/kg de BDE-99 ont présenté des troubles de l'apprentissage qui se traduisaient dans un cas par une distance pour atteindre la plate-forme supérieure à celle des animaux Témoins (He et al., 2009), et dans l'autre cas par des courbes d'apprentissages similaires à celle des animaux Témoins mais avec une incapacité à améliorer leur latence d'accès à la plate-forme lorsque son emplacement a été changé (Eriksson et al., 2001). Dans nos conditions expérimentales, les rats exposés aux doses de 0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j de BDE-99 pendant 90 jours, quel que soit leur âge au début de l'exposition, n'ont pas présenté de déficits mnésiques puisque leurs courbes d'apprentissages sont restées similaires à celles des rats Témoins dans le labyrinthe aquatique de Morris. La mémoire à long-terme de ces animaux ne semble pas non plus avoir été perturbée par le traitement au BDE-99 vu l'amélioration de leurs performances entre les 2 sessions de tests. De même, Bellés et al. (2010) n'ont pas observé de troubles de la mémoire spatiale et de l'apprentissage chez des rats adultes testés dans la piscine de Morris 45 jours après avoir été traités avec du BDE-99 à la dose unique de 0,6 ou 1,2 mg/kg.

La mémoire des animaux, évaluée également dans le test de reconnaissance sociale, n'a pas été perturbée par l'administration de doses réalistes de BDE-99 chez de jeunes rats, traités à partir du sevrage ou à partir de l'âge de 8 jours.

Par ailleurs, aucune conclusion n'a pu être établie quant aux performances d'apprentissage des animaux traités avec le polluant à l'âge adulte et testés dans le TESLA car les rats Témoins ne discriminaient pas les deux pédales après la période de 90 jours d'administration. Le protocole a donc été modifié pour les deux études réalisées chez les

jeunes. Le TESLA qui se déroulait auparavant sur 2 jours avec une phase de test de 10 minutes suivie d'une phase de re-test de 20 minutes le lendemain a été réalisée sous forme d'une session unique de 20 minutes pour les études réalisées chez le jeune. Aucun déficit de l'apprentissage n'a ainsi été observé dans ce test, que ce soit chez les jeunes traités depuis le sevrage ou chez ceux traités depuis l'âge de 8 jours. En effet, ils ont discriminé très tôt le levier actif du levier inactif, dès les 10 premières minutes du test, autant après 28 jours qu'après 60 ou 90 jours de traitement, alors même que les animaux Témoins n'avaient pas encore différencié les 2 leviers. La capacité des animaux traités avec le polluant à discriminer les 2 leviers plus rapidement que les animaux Témoins ne peut être expliquée par une activité accrue des animaux contaminés puisque le nombre total d'appuis était homogène pour tous les groupes. La motivation des animaux traités avec le BDE-99 était peut-être supérieure à celle des animaux Témoins. Etant donné que la motivation est une force qui repose sur un stimulus, celui-ci était peut-être plus intense pour les rats exposés au polluant. Les rats traités avec le BDE-99 présenteraient peut-être une sensibilité plus importante à la lumière de forte intensité.

4. BDE-99 et coordination locomotrice

Peu d'études ont traité de l'impact des PBDEs sur la coordination locomotrice. Selon Suvorov et al. (2009), des rats traités avec du BDE-47, 1 jour sur 5, du 15^{ème} jour de gestation au 20^{ème} jour de vie postnatale, aux doses de 2, 20 et 200 µg/kg n'ont pas présenté de troubles de la coordination locomotrice, mesurée dans le test du rotarod. Dans notre étude, l'exposition des jeunes à partir du sevrage pendant 90 jours n'a pas eu d'effets marquants aux 3 doses étudiées si ce n'est que les animaux Témoins ont été les seuls à avoir tous réussi le test et à n'avoir fait aucune chute comparé aux rats traités avec le polluant. Des troubles de la coordination locomotrice ont été visibles chez les jeunes traités au BDE-99 à partir de l'âge de 8 jours et testés après 12 jours de traitement (J12). Effectivement, ces animaux ont mis significativement plus de temps pour atteindre la plateforme et sont montés nettement moins haut le long de la tige filetée et ce, de manière dose-dépendante. Plus aucun déficit de la coordination locomotrice n'a été mis en évidence chez ces animaux après 21, 60 ou 90 jours d'administration. Le traitement au BDE-99 aux doses testées a donc entraîné des altérations transitoires de la coordination locomotrice uniquement chez les animaux traités depuis l'âge de 8 jours.

5. BDE-99 et anxiété

Comme nous l'avons vu précédemment, les PBDEs sont connus pour entraîner des perturbations de l'activité locomotrice notamment en induisant une hypoactivité des animaux

au début des tests effectués. Il est possible que cette activité réduite en début de test soit causée par une appréhension accrue des animaux confrontés à un environnement nouveau, d'où la nécessité d'évaluer l'anxiété chez ces derniers. Dans la littérature, l'impact d'une exposition aux PBDEs sur l'anxiété a été peu étudié. D'après Johansson et al. (2008), des souris traitées avec une dose unique de BDE-209 (1,34, 2,22, 13,4 et 20,1 mg/kg) à l'âge de 3 jours présentaient un niveau d'anxiété similaire à celui des animaux Témoins mesuré dans le labyrinthe en croix surélevé 4 mois après l'administration. De même, l'exposition pendant 90 jours au BDE-99 aux doses de 0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j n'a pas modifié le niveau d'anxiété des animaux, quelle que soit l'étude que nous avons réalisé, comme en témoigne l'absence de variation significative du pourcentage d'entrées dans les branches ouvertes entre les rats des différents groupes. Dans le test d'open-field, seuls les animaux traités à la forte dose de BDE-99, tant à partir de l'âge adulte qu'à partir du sevrage, ont présenté une augmentation de la thigmotaxie, qui est le comportement conduisant l'animal à éviter les espaces ouverts au fil du temps. Dans les deux études, ces animaux ont diminué leur temps passé dans la zone centrale qui est une zone spontanément anxiogène pour l'animal. La thigmotaxie étant considérée comme un indice d'anxiété chez les rongeurs (Simon et al., 1994), les animaux traités pendant 90 jours avec le BDE-99 à la dose de 15 µg/kg/j à l'âge adulte ou juste après le sevrage deviendraient plus anxieux avec le temps. Pourtant, des souris CD-1 exposées pendant la gestation et la lactation au BDE-99 à la dose de 6 mg/kg, et non aux doses de 0,6 et 30 mg/kg, ont présenté une altération de la thigmotaxie (Branchi et al., 2002) puisque leur pourcentage de temps passé près des bords du dispositif était inférieur à celui des animaux Témoins.

6. BDE-99 et ouverture des yeux

L'ouverture des yeux des jeunes est un indice de développement du système nerveux des animaux. D'après Goldey et al. (1995) et Goldey et Crofton (1998), l'exposition de rats Long-Evans durant la gestation et la lactation (GD 6 à PND 21) avec un PCB (Aroclor 1254), molécule structurellement proche des PBDEs, à la dose de 8 mg/kg a induit une ouverture des yeux plus précoce chez ces animaux. En effet, 25 % des rats traités avec le PCB avaient au moins un œil ouvert à l'âge de 14 jours alors qu'aucun animal Témoin n'avait les yeux ouverts. De plus, à l'âge de 15 jours, 80% des animaux traités avec le PCB avaient les yeux ouverts contre seulement 50% chez les animaux Témoins. De même, des souris exposées au sixième jour de gestation à un autre analogue des PBDEs, le TCDD (2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxine), à la dose de 30 µg/kg, *i.p.*, ont présenté, comme dans le cas du PCB, une ouverture plus précoce des yeux (Gin et al., 2010). Ces souris ont eu les yeux ouverts une journée plus tôt que les animaux Témoins.

Dans notre étude, l'ouverture des yeux des jeunes rats traités avec le BDE-99 à partir de l'âge de 8 jours a été relevée entre 14 et 18 jours de vie postnatale. Contrairement au PCB et au TCDD, il a été observé chez les jeunes traités avec le BDE-99 aux doses de 1,5 et 15 µg/kg/j un retard d'une journée concernant l'ouverture des yeux par rapport aux animaux Témoins. Kuriyama et al. (2005) n'ont pas mis en évidence d'effet d'un traitement au BDE-99 à la dose unique de 300 µg/kg à GD 6 sur l'ouverture des yeux des petits mais ceux-ci présentaient un retard concernant l'éruption des incisives qui est un autre indice du développement des animaux. Dans des études réalisées chez des souris traitées avec du BDE-209 aux doses de 10, 500 et 1500 mg/kg pendant les 17 premiers jours de gestation (Tseng et al., 2008) ou avec du décaBDE à la dose de 20 mg/kg de PND 2 à PND 15 (Rice et al., 2007), aucun retard ni précocité dans le l'ouverture des yeux n'a été observé chez les jeunes. De même, l'exposition de rats avec des doses de 1, 10 ou 30 mg/kg de ComPentaBDE de GD 6 à PND 21 n'a pas eu d'effet sur leur ouverture des yeux (Zhou et al., 2002).

7. BDE-99 et évolution pondérale

Le poids corporel des animaux n'est généralement pas perturbé par un traitement aux PBDEs. En effet, des jeunes rats ou souris exposés au BDE-99 ou au BDE-47 pendant la période périnatale (Branchi et al., 2002 ; Cheng et al., 2009) ou à une dose unique administrée au 10^{ème} jour de vie postnatale (Eriksson et al., 2001 ; Viberg et al., 2002, 2004, 2005) à des doses de 0,6 à 30 mg/kg ont tous montré une évolution pondérale similaire à celle des animaux Témoins. Le traitement de jeunes souris avec du BDE-209 aux doses de 10, 500 et 1500 mg/kg/j durant les 17 premiers jours de gestation (Tseng et al., 2008) ou à la dose unique de 1,34, 2,22 ou 20,1 mg/kg à l'âge de 3 jours (Johansson et al., 2008) n'a pas non plus induit de perturbations de leur poids corporel mesuré à la naissance, pendant la période de lactation ou au moment du sevrage. De même, dans nos études, l'exposition des rats au BDE-99 aux doses de 0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j à partir de l'âge de 8 jours, à partir du sevrage ou à partir de l'âge adulte n'a pas eu d'impact sur leur croissance corporelle tout au long des 90 jours de traitement ni sur leur gain de poids. La consommation de nourriture et de boisson chez ces animaux n'a globalement pas été non plus perturbée par le traitement au BDE-99. Selon Van der Ven et al. (2008b), le traitement de jeunes rats adultes Wistar avec du décaBDE pendant 28 jours à des doses de 2 à 30 mg/kg, n'a pas eu d'effet sur leur consommation de nourriture.

8. BDE-99 et poids de différents organes

Les organes notamment le foie, les reins ou ceux impliqués dans l'immunité sont sensibles à une intoxication et leur poids est une variable sensible de cette toxicité (Dunnick et Nyska, 2009). Selon Skarman et al. (2005), le poids du foie chez des souris femelles gestantes exposées au BDE-99 à la dose de 45,2 mg/kg tous les 3 jours de GD 4 à GD 17, était supérieur à celui des animaux Témoins à GD 20. Concernant la descendance, le poids du foie des petits à l'âge de 37 jours était quant à lui inférieur à celui des animaux Témoins lorsque les femelles gestantes ont reçu du ComPentaBDE à la dose 45,2 mg/kg à la place du BDE-99 (Skarman et al., 2005). Une augmentation du poids du foie chez de jeunes rats adultes F344/N et des souris B6C3F1 exposés à du ComPentaBDE pendant 13 semaines a été mise en évidence par Dunnick et Nyska (2009) dès la dose de 5 mg/kg pour les rats, 50 mg/kg pour les souris mâles et 100 mg/kg pour les souris femelles. Des auteurs ont également montré qu'une exposition au ComPentaBDE à la dose de 18,3 mg/kg chez de jeunes rats adultes Wistar a induit une augmentation du poids du foie (Van der Ven et al. 2008a). Le même type de résultats a été observé chez des rats Long-Evans exposés à cette molécule de GD 6 à PND 21 mais uniquement à la dose la plus élevée de 30 mg/kg (Zhou et al., 2002). Contrairement à ces études, le poids des différents organes (cerveau, reins, thymus, foie et rate) que nous avons mesuré n'a pas été significativement modifié quelle que soit la dose utilisée et/ ou la période d'exposition considérée.

Comme dans nos études, aucun effet sur le poids du foie, du thymus, de la rate, du cerveau, des testicules, de la prostate ni de l'utérus n'a été observé chez des rats après une exposition prénatale au BDE-99 à la dose unique 60 ou 300 µg/kg à GD 6 (Kuriyama et al., 2005) ou à la dose 1 et 10 mg/kg de GD 10 à GD 18 (Lilienthal et al., 2006). De même, dans l'étude de Tseng et al. (2008), le traitement de souris CD-1 femelles gestantes avec des doses de 10, 500 et 1500 mg/kg de BDE-209 durant les 17 premiers jours de gestation n'a pas eu d'impact sur le poids de leur foie, des reins, des glandes surrénales, de la rate et des ovaires 21 jours après la mise-bas, ni sur le poids du cerveau, du thymus, du foie, des reins, des glandes surrénales et de la rate chez les petits à l'âge de 71 jours. Des jeunes rats adultes exposés au ComDecaBDE pendant 28 jours présentaient également des organes dont le poids était similaire à celui des animaux Témoins (Van der Ven et al., 2008b).

9. BDE-99 et taux d'enzymes hépatiques

D'après Dunnick et Nyska (2009) et van der Ven et al. (2008a), le foie est un organe cible des PBDEs. Ces molécules sont en effet connues pour entraîner une hypertrophie de cet organe ainsi qu'une induction des cytochromes P450, notamment les CYP1A et CYP2B, enzymes impliquées dans la biotransformation des xénobiotiques. Les enzymes hépatiques

telles que l'ASAT, l'ALAT, la GGT et la PA sont généralement utilisées comme marqueurs précoces de toxicité hépatique, parce qu'elles apparaissent dans le sang en cas de dommages cellulaires au niveau des hépatocytes. Dans l'étude de Bruchajzer et Frydrych (2010), de jeunes rats adultes exposés pendant 28 jours au décaBDE, à des doses comprises entre 8 et 200 mg/kg/j, ont présenté une augmentation de l'activité des ASAT et ALAT. D'après Wolkers et al. (2009), l'exposition chronique de phoques à des contaminants environnementaux dont les PBDEs, n'a pas eu d'impact sur les taux sériques en ASAT, ALAT, GGT et en PA alors que Schumacher et al. (1995) ont mis en évidence une augmentation de l'activité de l'ALAT et de la GGT et une diminution de celle de l'ASAT chez des phoques exposés aux polluants environnementaux de la mer des Wadden. D'après nos études, l'exposition pendant 90 jours à de faibles doses de BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j) n'a pas semblé induire une toxicité hépatique au vue des concentrations en ASAT, ALAT, GGT et PA similaires à celles des animaux Témoins. Des doses plus fortes semblent alors nécessaires pour induire une toxicité hépatique puisque Dunnick et Nyska (2009) ont mis en évidence une augmentation du poids du foie à partir de la dose de 5 mg/kg de ComPentaBDE et une induction des cytochromes P450 et de l'UGT à partir de la dose de 50 mg/kg chez des rats.

10. BDE-99 et concentration en BDE-99 dans le tissu adipeux

Les PBDEs étant des molécules lipophiles, ils vont se distribuer préférentiellement dans la graisse après leur entrée dans l'organisme. En effet, les concentrations en BDE-47, BDE-99 et BDE-153 mesurées par Dunnick et Nyska (2009) dans le foie étaient plus faibles que dans le tissu adipeux après une exposition des jeunes rats ou souris adultes durant 13 semaines au pentaBDE aux doses de 0,01, 5, 50 et 100 et 500 mg/kg. Par ailleurs, des rats exposés au BDE-99 à la dose de 2 mg/kg pendant la gestation et la lactation ont présenté un taux de BDE-99 de 2576,3 ng/g de matière grasse (MG) dans le tissu adipeux (Tableau 35), de 634,7 ng/g de MG dans le foie et d'environ 250 ng/g de MG dans différentes régions du cerveau comme l'hippocampe, le cervelet ou dans le cortex, confirmant que l'hippocampe, après la graisse et le foie, est une cible potentielle de toxicité liée au BDE-99 (Cheng et al., 2009).

Tableau 35 : Concentration en BDE-99 dans le tissu adipeux (ng/g de MG) des animaux

	Molécule	Espèce	Mode d'exposition	Dose (mg/kg)	Concentration en BDE-99 dans le tissu adipeux (ng/g de MG)
Kuriyama et al., 2007	BDE-99	Rats Wistar	Administration unique p.o. à GD 6	0,06 0,3	323 (PND 14) ; 170 (PND 22) 3590 (PND 14) ; 1580 (PND 22)
Cheng et al., 2009	BDE-99	Rats Sprague-Dawley	Administrations quotidiennes p.o. GD 6 à PND 21	2	2576,3 (PND 37)
Lilienthal et al., 2006	BDE-99	Rats Long-Evans	Administrations quotidiennes p.o. GD 10 à PND 18	1 10	429 (PND 21) ; 26 (PND 160) 6020 (PND 21) ; 140 (PND 160)
Daubié et al., 2011	BDE-99	Rats Sprague-Dawley	Administrations quotidiennes p.o. chez l'adulte pendant 90 jours	0 0,00015 0,0015 0,015	0,58 (PND 160) 18,40 (PND 160) 190,78 (PND 160) 1925,67 (PND 160)

Par ailleurs, il apparaît que la concentration en BDE-99 dans la graisse diminue avec le temps en raison de l'élimination du polluant par l'organisme (Kuriyama et al., 2007 ; Lilienthal et al., 2006 ; Tableau 35).

Différents facteurs de variation tels que les doses de BDE-99 administrées, les durées d'exposition et le moment où les dosages dans le tissu adipeux ont été effectués rendent difficile la comparaison de nos résultats avec ceux de la littérature. Pour autant, le rapport de 10 que nous avons appliqué entre les 3 doses de BDE-99 administrées aux animaux a été retrouvé entre les 3 concentrations tissulaires en BDE-99 retrouvées dans la graisse des rats attestant de la qualité de la dose-réponse pratiquée (Daubié et al., 2011).

La concentration en PBDEs totaux dans le tissu adipeux des Européens était comprise entre 4 et 13 ng/g de MG (Covaci et al., 2002 ; Schecter et al., 2005 ; Sjödin et al., 2003). Selon Johnson-Restrepo et al. (2005), ces taux sont 10 à 100 fois plus élevés chez les Nord-Américain puisqu'ils sont compris entre 17,4 et 9630 ng/g de MG avec une moyenne de 399 ng/g de MG. Le taux de BDE-99 dans le tissu adipeux d'un New-Yorkais serait en moyenne de 74,4 ng/g de MG avec un taux maximal de 1380 ng/g de MG (Johnson-Restrepo et al., 2005). Au vu de ces résultats, les taux en BDE-99 dans le tissu adipeux des rats exposés au polluant durant l'âge adulte, compris entre 18 et 1925 ng/g de MG, sont donc similaires aux niveaux retrouvés dans la population humaine, particulièrement pour les animaux traités aux doses de 0,15 et 1,5 µg/kg/j. Les doses choisies dans nos études étaient donc pertinentes puisqu'elles étaient comparables aux doses d'exposition chez l'Homme.

11. Raisons possibles des différences observées entre nos études et celles de la littérature

Nos résultats ont mis en évidence que contrairement à une exposition aiguë à de fortes doses de BDE-99, une exposition de longue durée à des doses réalistes de ce polluant, dans nos conditions expérimentales, n'a pas induit d'altération notable du comportement et de la physiologie des animaux, excepté des perturbations de la coordination locomotrice observées à l'âge de 19 jours chez les jeunes traités à partir de l'âge de 8 jours. Cette absence globale d'effet pourrait être due à la durée d'exposition de 90 jours qui serait insuffisante au vue des faibles doses de BDE-99 administrées. L'autre raison pour laquelle aucun effet n'a été observé dans la première étude chez les rats adultes est la sensibilité moindre d'animaux adultes par rapport aux jeunes à de tels polluants. En effet, selon Rice et Barone (2000) et Selevan et al. (2000), il semblerait que l'exposition à de tels polluants durant la phase critique de développement rapide du cerveau ou durant la phase de maturation tardive du cerveau induise une plus grande toxicité qu'une exposition sur un système nerveux mature. De plus, la masse grasse d'un animal adulte est supérieure à celle d'un jeune. Or, d'après Geyer et al. (1993), le stockage de substances lipophiles dans le tissu adipeux pourrait être considéré comme un mécanisme de détoxification de l'organisme étant donné que ces composés ne sont plus disponibles pour aller se fixer sur des sites d'action et/ou des récepteurs. Ces auteurs ont en effet montré que la toxicité du TCDD, molécule structurellement proche des PBDEs, était inversement corrélée à la masse totale de graisse des animaux.

D'après Branchi et al. (2002), les altérations comportementales pourraient être dépendantes du mode et de l'âge d'exposition chez les jeunes. Une administration unique de fortes doses de PBDEs engendrerait plus d'effets qu'une exposition de longue durée à de fortes doses de ce polluant. En effet, dans l'étude d'Eriksson et al. (2001), l'administration unique de BDE-99 chez des jeunes souris âgées de 10 jours a entraîné des perturbations de leur comportement spontané, perturbations qui étaient permanentes et empiraient avec l'âge des animaux. L'étude réalisée par Branchi et al. (2002) a montré au contraire que l'exposition périnatale de longue durée, de GD 6 à PND 21, a induit une hyperactivité transitoire avec une relation dose-réponse inverse. D'après Gilbert et al. (1999), des phénomènes de compensation dans l'organisme en développement seraient déclenchés en cas d'exposition de longue durée.

Le BDE-99 était dissout de l'huile de maïs qui limiterait peut-être l'absorption intestinale du polluant et ainsi ses effets sur l'organisme. Cependant, en effectuant des dosages de BDE-99 dans le tissu adipeux des animaux adultes, nous avons montré que ceux-ci avaient bien été intoxiqués par le polluant et que les valeurs étaient même comparables à celles retrouvées dans les échantillons de tissu adipeux humain. De plus, ce même véhicule a été

utilisé dans de nombreuses études dans lesquelles ont été mis en évidence les effets des PBDEs sur l'organisme des rats ou des souris (Branchi et al., 2002, 2005 ; Dunnick et Nyska, 2009 ; Skarman et al., 2005 ; Tseng et al., 2006, 2008 ; Zhou et al., 2001, 2002).

Nous pouvons nous demander si la souche de rats utilisée dans ces études, qui est la souche Sprague-Dawley, était assez sensible à de tels polluants. La souche Wistar/Han constitue par exemple la souche la plus résistante aux dioxines avec une DL_{50} supérieure à 9600 µg/kg (Pohjanvirta et al., 1993, 1999 ; Unkila et al., 1994) en raison d'une mutation au niveau du récepteur Ah sur lequel se fixent les dioxines ou les PBDEs (Pohjanvirta et al., 1998). Une souche sensible aux dioxines l'est donc probablement aux PBDEs. D'après Franc et al. (2001), la souche Sprague-Dawley est, quant à elle, sensible aux dioxines puisque la DL_{50} est estimée à 50 µg/kg donc cette souche de rat utilisée dans nos études est certainement sensible aux PBDEs.

Bien que le mécanisme d'action exact des PBDEs ne soit pas encore connu, il semblerait qu'un des principaux mécanismes de toxicité des PBDEs soit la surproduction d'espèces réactives de l'oxygène dans le cerveau, notamment au sein du néocortex, de l'hypothalamus et de l'hippocampe qui sont des structures impliquées dans les fonctions de mémorisation et d'apprentissage ainsi que dans l'intégration des fonctions sensorielles et motrices (Bellés et al., 2010 ; Cheng et al., 2009 ; Giordano et al., 2008). Pourtant, selon Bellés et al. (2010), l'exposition de rats adultes au BDE-99 a induit du stress oxydatif dans le cervelet ainsi que dans le cortex et dans l'hippocampe dans une moindre mesure, mais n'a engendré aucune perturbation de l'apprentissage ni de l'activité locomotrice. Des perturbations du comportement des animaux seraient donc le résultat de modifications conséquentes du stress oxydatif au niveau du cerveau.

De nombreuses études ont mis en évidence la toxicité des PBDEs, tant sur le plan physiologique que comportementale, lorsque ces molécules étaient administrées à des doses 1 000 à 10 000 fois plus élevées que celles auxquelles l'humain est exposé. Nos études, quant à elles basées sur l'évaluation des effets de doses environnementales de BDE-99 chez le rat à différentes étapes du développement, n'ont pas clairement démontré d'effets délétères dans nos conditions expérimentales. Cependant, ces travaux apportent des éléments nouveaux à la littérature puisque très peu de scientifiques ne s'étaient réellement intéressés jusqu'ici à l'impact d'une exposition reflétant la pollution humaine. La conclusion de ces études pourrait ainsi rassurer la population sur les risques liés à l'exposition aux retardateurs de flamme bromés tels que les PBDEs.

Conclusion générale et perspectives

Alors qu'un questionnement émerge depuis ces dernières années en ce qui concerne le rôle des polluants organiques présents dans l'environnement sur la fonctionnalité cérébrale et la prévalence croissante des pathologies neurodégénératives (Wright et Kellers-Byrne, 2005), l'objectif de ce travail de thèse a été d'évaluer les effets d'une exposition quotidienne de longue durée (90 jours) à un polluant environnemental très répandu et réputé toxique, le BDE-99, aussi bien sur le plan du comportement que sur la physiologie chez le rat afin de connaître l'impact réel que peut avoir cette molécule chimique sur l'organisme. Le but de ce travail a donc été de développer un modèle animal d'exposition au BDE-99 qui soit le reflet de la réalité humaine. Pour cela, il a été basé sur des niveaux d'exposition effectivement observés chez l'homme en administrant 2 doses qui peuvent être qualifiées de réalistes (0,15 et 1,5 µg/kg/j) et une troisième plus élevée (15 µg/kg/j) de manière à atteindre un seuil toxique connu pour ce contaminant

Dans la première étude, l'exposition d'animaux adultes à de faibles doses de BDE-99 pendant 90 jours n'a pas entraîné d'effets notables tant sur le plan du comportement (activité locomotrice, cognition et anxiété), que sur le plan physiologique puisque le poids corporel, les prises alimentaire et hydrique, les concentrations en enzymes hépatiques ainsi que le poids des organes étaient homogènes pour tous les groupes de traitement.

Certes, de nombreuses études dans la littérature ont mis en évidence la neurotoxicité de ce composé ainsi que sa capacité à altérer les fonctions thyroïdienne, hépatique, reproductrice et immunitaire. Toutefois, les doses utilisées dans ces études étaient 1000 à 10 000 fois plus élevées que celles utilisées dans notre étude, de l'ordre de quelques milligrammes à plusieurs centaines de milligrammes par kg, et donc très éloignées des niveaux d'exposition chez l'Homme. De plus, les PBDEs étaient généralement administrés en dose unique ce qui ne reflète absolument pas le mode d'exposition de l'Homme.

Etant donné la plus grande vulnérabilité du cerveau en développement par rapport à l'organe mature (Rice et Barone, 2000, Selevan et al., 2000), deux autres études ont été réalisées en administrant le BDE-99 chez le jeune rat, l'une dans laquelle les animaux ont été traités pendant 90 jours à partir du sevrage et l'autre dans laquelle ils ont été traités à partir de l'âge de 8 jours. L'exposition de longue durée des jeunes animaux à ces faibles doses de polluant n'a globalement pas induit de perturbations de leurs fonctions cognitives, de leur activité ni de leur niveau d'anxiété quel que soit leur âge au début de l'exposition. Seuls des troubles transitoires dose-dépendants de la coordination locomotrice ont été mis en évidence chez les animaux traités à partir de 8 jours de vie postnatale. Ces animaux ont également présenté un retard d'une journée dans l'ouverture des yeux par rapport aux animaux témoins.

Par ailleurs, la mesure de la concentration en BDE-99 dans le tissu adipeux, qui n'a été réalisée que chez les rats traités à l'âge adulte, a permis de montrer la réalité de l'exposition de ces animaux au polluant, c'est-à-dire confirmer l'absorption intestinale du produit, ainsi que la pertinence des doses choisies puisque les taux en BDE-99 retrouvés dans la graisse des rats étaient similaires à ceux retrouvés dans la population humaine. Les doses administrées aux animaux étaient donc bien le reflet des niveaux de pollution auxquels l'Homme est exposé.

Au-delà des conclusions de ce travail, plusieurs perspectives peuvent être envisagées de manière à renforcer la compréhension des résultats qui ont été observés :

Devant le peu d'effets obtenus suite à l'administration orale subchronique de BDE-99 chez les rats traités à différents âges, se pose la question de savoir si la molécule a traversé la barrière hémato-encéphalique. Il serait donc nécessaire de doser la concentration de BDE-99 dans le tissu cérébral pour confirmer son passage à travers cette barrière.

Il serait également intéressant de mesurer les marqueurs de stress oxydatif au niveau cérébral dans les régions corticales, hippocampiques ou cérébelleuses telles que l'activité d'enzymes antioxydantes incluant la catalase, la superoxyde dismutase, la glutathion réductase, la glutathion peroxydase et la glutathion-S-transférase, afin de savoir si le BDE-99 a induit ou non des dommages oxydatifs au niveau de cet organe, dommages précédents toujours les altérations histopathologiques ainsi que les troubles comportementaux.

Ensuite, dans le but d'obtenir un modèle animal de pathologies neurodégénératives induit par un polluant environnemental, il serait nécessaire de reconduire cette expérience en traitant les animaux sur une plus longue durée au vue des faibles doses utilisées ou en laissant vieillir ces animaux après leur exposition de 90 jours car des effets comportementaux peuvent apparaître de manière retardée, comme l'a montré l'étude de Rice et al. (2009) dans laquelle des souris exposées au décaBDE de PND 2 à PND 15 ont présenté des altérations comportementales qu'une fois l'âge de 16 mois atteint. En effet, un modèle animal de maladies neurodégénératives dont les mécanismes seraient proches de ceux retrouvés chez l'Homme présenterait un grand intérêt médical car il permettrait de tester des molécules en prévention et/ ou en traitement de ces pathologies.

Enfin, il serait intéressant de réaliser une étude dans laquelle les rats seraient traités avec une matrice naturellement contaminée, comme du lait de chèvre nourries avec du fourrage contaminé par les PBDEs et par d'autres polluants organiques, et de comparer les résultats obtenus à ceux des études ultérieures dans lesquelles le BDE-99 était dissout dans de l'huile de maïs. Le but serait de pouvoir évaluer le risque encouru par la population lié à la consommation d'aliments naturellement contaminé tel que le lait.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdelouahab N, Suvorov A, Pasquier JC, Langlois MF, Praud JP, Takser L (2009). Thyroid disruption by low-dose BDE-47 in prenatally exposed lambs. *Neonatology*, 96: 120-4.
- Alaee M, Arias P, Sjödin A, Bergman A (2003). An overview of commercially used brominated flame retardants, their applications, their use patterns in different countries/regions and possible modes of release. *Environ Int*, 29: 683-9.
- Agid Y, Javoy-Agid F, Ruberg M (1987). Biochemistry of neurotransmitters in Parkinson's disease. In: Marsden CD, Fahn S (Eds), *Movement Disorders*, volume 2, pp. 166-230. London: Butterworths.
- Allen BC, Kavlock RJ, Kimmel CA, Faustman EM (1994). Dose-response assessment for developmental toxicity. II. Comparison of generic benchmark dose estimates with no observed adverse effect levels. *Fundam Appl Toxicol*, 23: 487-95.
- Amouyel P (2002). Genetic susceptibility to ageing-associated diseases. *C R Biol*, 325: 741-5.
- Araujo DM, Lapchak PA, Robitaille Y, Gauthier S, Quirion R (1988). Differential alteration of various cholinergic markers in cortical and subcortical regions of human brain in Alzheimer's disease. *J Neurochem*, 50: 1914-23.
- Asplund L, Athanasiadou M, Sjödin A, Bergman Å, Börjeson H (1999). Organohalogen substances in muscle, egg, and blood from healthy Baltic salmon (*Salmo salar*) and Baltic salmon that produced offspring with the M74 syndrome. *Ambio*, 28: 67-76.
- Auclair AL, Besnard J, Newman-Tancredi A, Depoortère R (2009). The five choice serial reaction time task: comparison between Sprague-Dawley and Long-Evans rats on acquisition of task, and sensitivity to phencyclidine. *Pharmacol Biochem Behav*, 92: 363-9.
- Beineke A, Siebert U, Stott J, Müller G, Baumgärtner W (2007). Phenotypical characterization of changes in thymus and spleen associated with lymphoid depletion in free-ranging harbor porpoises (*Phocoena phocoena*). *Vet Immunol Immunopathol*, 117: 254-65.
- Beineke A, Siebert U, McLachlan M, Bruhn R, Thron K, Failing K, Müller G, Baumgärtner W (2005). Investigations of the potential influence of environmental contaminants on the thymus and spleen of harbor porpoises (*Phocoena phocoena*). *Environ Sci Technol*, 39: 3933-8.
- Bellés M, Alonso V, Linares V, Albina ML, Sirvent JJ, Domingo JL, Sánchez DJ (2010). Behavioral effects and oxidative status in brain regions of adult rats exposed to BDE-99. *Toxicol Lett*, 194: 1-7.
- Bergman A, Athanasiadou M, Fäldt E, Jakobsson K (2006). Hydroxylated PBDE metabolites in human blood. *Organohal Compds*.
- Birnbaum LS, Cohen Hubal EA (2006). Polybrominated diphenyl ethers: a case study for using biomonitoring data to address risk assessment questions. *Environ Health Perspect*, 114: 1770-5.
- Birnbaum LS, Staskal DF (2004). Brominated flame retardants: cause for concern? *Environ Health Perspect*, 112: 9-17.

- Bocio A, Llobet JM, Domingo JL, Corbella J, Teixidó A, Casas C (2003). Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in foodstuffs: human exposure through the diet. *J Agric Food Chem*, 51: 3191-5.
- Bowen DM, Allen SJ, Benton JS, Goodhardt MJ, Haan EA, Palmer AM, Sims NR, Smith CC, Spillane JA, Esiri MM, Neary D, Snowden JS, Wilcock GK, Davison AN (1983). Biochemical assessment of serotonergic and cholinergic dysfunction and cerebral atrophy in Alzheimer's disease. *J Neurochem*, 41: 266-72.
- Bragigand V, Amiard-Triquet C, Parlier E, Boury P, Marchand P, El Hourch M (2006). Influence of biological and ecological factors on the bioaccumulation of polybrominated diphenyl ethers in aquatic food webs from French estuaries. *Sci Total Environ*, 368: 615-26.
- Bragigand V (2005). Recherches écotoxicologiques sur les retardateurs de flamme bromés dans les écosystèmes estuariens (estuaires de Loire et de Seine). Thèse de doctorat. Université de Nantes.
- Branchi I, Capone F, Vitalone A, Madia F, Santucci D, Alleva E, Costa LG (2005). Early developmental exposure to BDE 99 or Aroclor 1254 affects neurobehavioural profile: interference from the administration route. *Neurotoxicology*, 26: 183-92.
- Branchi I, Alleva E, Costa LG (2002). Effects of perinatal exposure to a polybrominated diphenyl ether (PBDE 99) on mouse neurobehavioural development. *Neurotoxicology*, 23: 375-84.
- Brignon JM, Martinez E, Sureau S (2006). Déca bromo diphenyléthers. INERIS, Fiche de données technico-économiques sur les substances chimiques en France. 14 p.
- Brouwer A, Morse DC, Lans MC, Schuur AG, Murk AJ, Klasson-Wehler E, Bergman A, Visser TJ (1998). Interactions of persistent environmental organohalogenes with the thyroid hormone system: mechanisms and possible consequences for animal and human health. *Toxicol Ind Health*, 14: 59-84.
- Brown GG, Nixon R (1979). Exposure to polybrominated biphenyls. Some effects on personality and cognitive functioning. *JAMA*, 242: 523-7.
- Bruchajzer E, Frydrych B, Sporny S, Szymańska JA (2010). Toxicity of penta- and decabromodiphenyl ethers after repeated administration to rats: a comparative study. *Arch Toxicol*, 84: 287-99.
- BSEF 2000. An Introduction to Bromine. Brussels: Bromine Science and Environmental Forum. Available: <http://www.bsef-site.com/docs/bromine.pdf>.
- BSEF 2003. BFR regulatory overview in Europe. Brussels: Bromine Science and Environmental Forum. Available: <http://www.bsef-site.com/weee/>.
- BSEF 2006. Fact Sheet Brominate flame retardant HBCD. Brussels: Bromine Science and Environmental Forum. Available: http://www.bsef.com/env_health/hbcd/.
- Cahill TM, Groskova D, Charles MJ, Sanborn JR, Denison MS, Baker L (2007). Atmospheric concentrations of polybrominated diphenyl ethers at near-source sites. *Environ Sci Technol*, 41: 6370-7.
- Campbell A (2006). The role of aluminum and copper on neuroinflammation and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 10: 165-72.

- Cantón RF, Nijmeijer S, Daamen FEJ, Van der Ven LTM, Van den Berg M (2007). In vivo steroidogenic effects of several brominated flame retardants in Wistar rats. *Organohalog Compd*, 69: 2647-50.
- Carlson GP (1980). Induction of xenobiotic metabolism in rats by short-term administration of brominated diphenyl ethers. *Toxicol Lett*, 5: 19-25.
- Caudle WM, Richardson JR, Delea KC, Guillot TS, Wang M, Pennell KD, Miller GW (2006). Polychlorinated biphenyl-induced reduction of dopamine transporter expression as a precursor to Parkinson's disease-associated dopamine toxicity. *Toxicol Sci*, 92: 490-9.
- Chen SJ, Ma YJ, Wang J, Chen D, Luo XJ, Mai BX (2009). Brominated flame retardants in children's toys: concentration, composition, and children's exposure and risk assessment. *Environ Sci Technol*, 43: 4200-6.
- Cheng J, Gu J, Ma J, Chen X, Zhang M, Wang W (2009). Neurobehavioural effects, redox responses and tissue distribution in rat offspring developmental exposure to BDE-99. *Chemosphere*, 75: 963-8.
- Chhabra RS, Bucher JR, Haseman JK, Elwell MR, Kurtz PJ, Carlton BD (1993). Comparative carcinogenicity of polybrominated biphenyls with or without perinatal exposure in rats and mice. *Fundam Appl Toxicol*, 21: 451-60.
- Chrysostome V, Tison F (2006). Épidémiologie. In: Defebvre L, Vêrin M (Eds), La maladie de Parkinson, pp. 3-9. Paris: Masson.
- Citepa, 2004. Rapport sur les émissions dans l'air en France. 12p.
- Costa LG, Giordano G (2007). Developmental neurotoxicity of polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants. *Neurotoxicology*, 28: 1047-67.
- Covaci A, Voorspoels S (2005). Optimization of the determination of polybrominated diphenyl ethers in human serum using solid-phase extraction and gas chromatography-electron capture negative ionization mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 827: 216-23.
- Covaci A, De Boer J, Ryan JJ, Voorspoels S, Schepens P (2002). Determination of polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls in human adipose tissue by large-volume injection-narrow-bore capillary gas chromatography/electron impact low resolution mass spectrometry. *Anal Chem*, 74: 790-8.
- Dantzer R, Bluthé RM, Koob GF, Le Moal M (1987). Modulation of social memory in male rats by neurohypophyseal peptides. *Psychopharmacology*, 91: 363-8.
- Darnerud PO (2008). Brominated flame retardants as possible endocrine disrupters. *Int J Androl*, 31: 152-60.
- Darnerud PO, Risberg S (2006). Tissue localisation of tetra- and pentabromodiphenyl ether congeners (BDE-47, -85 and -99) in perinatal and adult C57BL mice. *Chemosphere*, 62: 485-93.
- Darnerud PO, Eriksen GS, Jóhannesson T, Larsen PB, Viluksela M (2001). Polybrominated diphenyl ethers: occurrence, dietary exposure, and toxicology. *Environ Health Perspect*, 109: 49-68.

Daubié S, Bisson JF, Lalonde R, Schroeder H, Rychen G (2011). Neurobehavioral and physiological effects of low doses of polybrominated diphenyl ether (PBDE)-99 in male adult rats. *Toxicol Lett*, doi:10.1016/j.toxlet.2011.04.009.

de Wit CA (2002). An overview of brominated flame retardants in the environment. *Chemosphere* 46 : 583-624.

Delacourte A (2003). Le cerveau sans mémoire. *La recherche*, hors série N°10, janvier.

Derkinderen P, Damier P (2006). Etiopathogénie. In: Defebvre L, Vérin M (Eds), *La maladie de Parkinson*, pp. 11-21. Paris: Masson.

Desaulniers D, Leingartner K, Musicki B, Yagminas A, Xiao GH, Cole J, Marro L, Charbonneau M, Tsang BK (2003). Effects of postnatal exposure to mixtures of non-ortho-PCBs, PCDDs, and PCDFs in prepubertal female rats. *Toxicol Sci*, 75: 468-80.

Directive 2002/95/EC of the European Parliament and of the council of 27 January 2003 on the restriction of the use of certain hazardous substances in electrical and electronic equipment. Official Journal of the European Union.

Directive 2002/96/EC of the European Parliament and of the council of 27 January 2003 on waste electrical and electronic equipment (WEEE). Official Journal of the European Union.

Directive 2003/11/EC of the European Parliament and of the council of 6 February 2003 amending for the 24th time council directive 76/769/EEC relating to restrictions on the marketing and use of certain dangerous substances and preparations (pentabromodiphenyl ether, octabromodiphenyl ether). Official Journal of the European Union.

Directive 2010/63/UE du Parlement européen et du Conseil du 22 septembre 2010 relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques. Official Journal of the European Union.

Dufault C, Poles G, Driscoll LL (2005). Brief postnatal PBDE exposure alters learning and the cholinergic modulation of attention in rats. *Toxicol Sci*, 88: 172-80.

Dunnick JK, Nyska A (2009). Characterization of liver toxicity in F344/N rats and B6C3F1 mice after exposure to a flame retardant containing lower molecular weight polybrominated diphenyl ethers. *Exp Toxicol Pathol*, 61: 1-12.

ECB (European Chemical Bureau) (2003). European Union Risk Assessment report: Diphenyl ether, octabromo derivative. 1st Priority List, Volume 16, 274 p. European Commission, EUR 20403 EN. Disponible sur : http://ecb.jrc.it/DOCUMENTS/Existing-Chemicals/RISK_ASSESSMENT/REPORT/octareport014.pdf.

ECB (European Chemical Bureau) (2002). European Union Risk Assessment report: bis(pentabromophenyl)ether. 1st Priority List, Volume 17, 294 p. European Commission, EUR 20402 EN. Disponible sur : http://ecb.jrc.it/DOCUMENTS/Existing-Chemicals/RISK_ASSESSMENT/REPORT/decabromodiphenyletherreport013.pdf.

el Dareer SM, Kalin JR, Tillery KF, Hill DL (1987). Disposition of decabromobiphenyl ether in rats dosed intravenously or by feeding. *J Toxicol Environ Health*, 22: 405-15.

Epelbaum J, Dournaud P, Fodor M, Viollet C (1994). The neurobiology of somatostatin. *Crit Rev Neurobiol*, 8: 25-44.

- Eriksson P, Fischer C, Fredriksson A (2006). Polybrominated diphenyl ethers, a group of brominated flame retardants, can interact with polychlorinated biphenyls in enhancing developmental neurobehavioral defects. *Toxicol Sci*, 94: 302-9.
- Eriksson P, Viberg H, Jakobsson E, Orn U, Fredriksson A (2002). A brominated flame retardant, 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether: uptake, retention, and induction of neurobehavioral alterations in mice during a critical phase of neonatal brain development. *Toxicol Sci*, 67: 98-103.
- Eriksson P, Jakobsson E, Fredriksson A (2001). Brominated flame retardants: a novel class of developmental neurotoxicants in our environment? *Environ Health Perspect*, 109: 903-8.
- Eriksson P, Viberg H, Jakobsson E, Örn, U, Fredriksson A (1999). PBDE, 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether, causes permanent neurotoxic effects during a defined period of neonatal brain development. *Organohalog Compd*, 40: 333-6.
- Eriksson P, Jakobsson E, Fredriksson A (1998). Developmental neurotoxicity of brominated flame-retardants, polybrominated diphenyl ethers and tetrabromo-bis-phenol A. *Organohalog Compd*, 35: 375-7.
- Fernie KJ, Laird Shutt J, Ritchie IJ, Letcher RJ, Drouillard K, Bird DM (2006). Changes in the growth, but not the survival, of American kestrels (*Falco sparverius*) exposed to environmentally relevant polybrominated diphenyl ethers. *J Toxicol Environ Health A*, 69: 1541-54.
- Fernie KJ, Shutt JL, Mayne G, Hoffman D, Letcher RJ, Drouillard KG, Ritchie IJ (2005). Exposure to polybrominated diphenyl ethers (PBDEs): changes in thyroid, vitamin A, glutathione homeostasis, and oxidative stress in American kestrels (*Falco sparverius*). *Toxicol Sci*, 88: 375-83.
- Fowles JR, Fairbrother A, Baecher-Steppan L, Kerkvliet NI (1994). Immunologic and endocrine effects of the flame-retardant pentabromodiphenyl ether (DE-71) in C57BL/6J mice. *Toxicology*, 86: 49-61.
- Franc MA, Pohjanvirta R, Tuomisto J, Okey AB (2001). In vivo up-regulation of aryl hydrocarbon receptor expression by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in a dioxin-resistant rat model. *Biochem Pharmacol*, 62: 1565-78.
- Frederiksen M, Vorkamp K, Thomsen M, Knudsen LE (2009). Human internal and external exposure to PBDEs - a review of levels and sources. *Int J Hyg Environ Health*, 212: 109-34.
- Freixa i Baqué E (1981). Une mise au point de quelques concepts et termes employés dans le domaine du conditionnement opérant. *L'année psychologique*, 81: 123-9.
- Frouin H, Lebeuf M, Hammill M, Masson S, Fournier M (2010). Effects of individual polybrominated diphenyl ether (PBDE) congeners on harbour seal immune cells in vitro. *Mar Pollut Bull*, 60: 291-8.
- Gao P, He P, Wang A, Xia T, Xu B, Xu Z, Niu Q, Guo L, Chen X (2009). Influence of PCB153 on oxidative DNA damage and DNA repair-related gene expression induced by PBDE-47 in human neuroblastoma cells in vitro. *Toxicol Sci*, 107: 165-70.

- Gaul S, Lehnert K, Conrad J, Vetter W (2005). HPLC isolation and NMR structure elucidation of the most prominent octabromo isomer in technical octabromo diphenyl ether. *J Sep Sci*, 28: 2268-74.
- Gauthier E, Fortier I, Courchesne F, Pepin P, Mortimer J, Gauvreau D (2001). Environmental pesticide exposure as a risk factor for Alzheimer's disease: a case-control study. *Environ Res*, 86: 37-45.
- Geyer HJ, Scheunert I, Rapp K, Gebefügi I, Steinberg C, Kettrup A (1993). The relevance of fat content in toxicity of lipophilic chemicals to terrestrial animals with special reference to dieldrin and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Ecotoxicol Environ Saf*, 26: 45-60.
- Gilbert ME, Mack CM, Lasley SM (1999). Chronic developmental lead exposure and hippocampal long-term potentiation: biphasic dose-response relationship. *Neurotoxicology*, 20: 71-82.
- Gin DW, Kim HR, Lee DM, Lee SH, Seong AR, Hwang JA, Park JH (2010). 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin up-regulates stathmin 1 in the eye: suggestive evidence for the involvement of stathmin 1 in accelerated eye opening in mice induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Toxicol Lett*, 196: 87-94.
- Giordano G, Kavanagh TJ, Costa LG (2008). Neurotoxicity of a polybrominated diphenyl ether mixture (DE-71) in mouse neurons and astrocytes is modulated by intracellular glutathione levels. *Toxicol Appl Pharmacol*, 232: 161-8.
- Goldey ES, Crofton KM (1998). Thyroxine replacement attenuates hypothyroxinemia, hearing loss, and motor deficits following developmental exposure to Aroclor 1254 in rats. *Toxicol Sci*, 45: 94-105.
- Goldey ES, Kehn LS, Lau C, Rehnberg GL, Crofton KM (1995). Developmental exposure to polychlorinated biphenyls (Aroclor 1254) reduces circulating thyroid hormone concentrations and causes hearing deficits in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 135: 77-88.
- Gupta BN, McConnell EE, Moore JA, Haseman JK (1983). Effects of a polybrominated biphenyl mixture in the rat and mouse. II. Lifetime study. *Toxicol Appl Pharmacol*, 68: 19-35.
- Hakk H, Huwe J, Low M, Rutherford D, Larsen G (2006). Tissue disposition, excretion and metabolism of 2,2',4,4',6-pentabromodiphenyl ether (BDE-100) in male Sprague-Dawley rats. *Xenobiotica*, 36: 79-94.
- Hakk H, Larsen G, Klasson-Wehler E (2002). Tissue disposition, excretion and metabolism of 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether (BDE-99) in the male Sprague-Dawley rat. *Xenobiotica*, 32: 369-82.
- Hamers T, Kamstra JH, Sonneveld E, Murk AJ, Kester MHA, Andersson PL, Legler J, Brouwer A (2006). In vitro profiling of the endocrine-disrupting potency of brominated flame retardants. *Toxicol Sci*, 92: 157-73.
- Harker KT, Whishaw IQ (2002). Place and matching-to-place spatial learning affected by rat inbreeding (Dark-Agouti, Fischer 344) and albinism (Wistar, Sprague-Dawley) but not domestication (wild rat vs. Long-Evans, Fischer-Norway). *Behav Brain Res*, 134: 467-77.
- Harrad S, Wijesekera R, Hunter S, Halliwell C, Baker R (2004). Preliminary assessment of U.K. human dietary and inhalation exposure to polybrominated diphenyl ethers. *Environ Sci Technol*, 38: 2345-50.

He P, Wang AG, Xia T, Gao P, Niu Q, Guo LJ, Chen XM (2009). Mechanisms underlying the developmental neurotoxic effect of PBDE-47 and the enhanced toxicity associated with its combination with PCB153 in rats. *Neurotoxicology*, 30: 1088-95.

He W, He P, Wang A, Xia T, Xu B, Chen X (2008). Effects of PBDE-47 on cytotoxicity and genotoxicity in human neuroblastoma cells in vitro. *Mutat Res*, 649: 62-70.

Helleday T, Tuominen KL, Bergman A, Jenssen D (1999). Brominated flame retardants induce intragenic recombination in mammalian cells. *Mutat Res*, 439: 137-47.

Hites RA (2004). Polybrominated diphenyl ethers in the environment and in people: a meta-analysis of concentrations. *Environ Sci Technol*, 38: 945-56.

Hooper K, McDonald TA (2000). The PBDEs: an emerging environmental challenge and another reason for breast-milk monitoring programs. *Environ Health Perspect*, 108: 387-92.

Huang SC, Giordano G, Costa LG (2010). Comparative cytotoxicity and intracellular accumulation of five polybrominated diphenyl ether congeners in mouse cerebellar granule neurons. *Toxicol Sci*, 114: 124-32.

Huwe J, Hakk H, Lorentzen M (2002). A mass balance study of a commercial octabromodiphenyl ether mixture in rats. *Organohal Compds*, 58: 229-32.

Ibanez V (2005). Les maladies neuro-dégénératives : problèmes cliniques. Médecine nucléaire - Imagerie fonctionnelle et métabolique. Volume 29, n°4. Unité de Neuroimagerie - Département de Psychiatrie. Hôpitaux Universitaires de Genève (HUG), Suisse.

Inoue K, Harada K, Takenaka K, Uehara S, Kono M, Shimizu T, Takasuga T, Senthilkumar K, Yamashita F, Koizumi A (2006). Levels and concentration ratios of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in serum and breast milk in Japanese mothers. *Environ Health Perspect*, 114: 1179-85.

IPCS, 1994. International Program on Chemical Safety. Brominated diphenyl ethers. Environmental Health Criteria, vol. 162. World Health Organisation, Geneva.

IPCS, 1995. International Program on Chemical Safety. Tetrabromobisphenol A and derivatives. Environmental Health Criteria, vol. 172. World Health Organisation, Geneva.

Johansson N, Viberg H, Fredriksson A, Eriksson P (2008). Neonatal exposure to decabrominated diphenyl ether (PBDE 209) causes dose-response changes in spontaneous behaviour and cholinergic susceptibility in adult mice. *Neurotoxicology*, 29: 911-9.

Johnson-Restrepo B, Kannan K (2009). An assessment of sources and pathways of human exposure to polybrominated diphenyl ethers in the United States. *Chemosphere*, 76: 542-8.

Johnson-Restrepo B, Kannan K, Rapaport DP, Rodan BD (2005). Polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls in human adipose tissue from New York. *Environ Sci Technol*, 39: 5177-82.

Jones-Otazo HA, Clarke JP, Diamond ML, Archbold JA, Ferguson G, Harner T, Richardson GM, Ryan JJ, Wilford B (2005). Is house dust the missing exposure pathway for PBDEs? An analysis of the urban fate and human exposure to PBDEs. *Environ Sci Technol*, 39: 5121-30.

Journal Officiel des communautés européennes C 152 du 18.6.2008, p.11.

- Kavanagh TJ, Chang CC, Trosko JE (1987). Effect of various polybrominated biphenyls on cell-cell communication in cultured human teratocarcinoma cells. *Fundam Appl Toxicol*, 8: 127-31.
- Kavanagh TJ, Rubinstein C, Liu PL, Chang CC, Trosko JE, Sleight SD (1985). Failure to induce mutations in Chinese hamster V79 cells and WB rat liver cells by the polybrominated biphenyls, Firemaster BP-6, 2,2',4,4',5,5'-hexabromobiphenyl, 3,3',4,4',5,5'-hexabromobiphenyl, and 3,3',4,4'-tetrabromobiphenyl. *Toxicol Appl Pharmacol*, 79: 91-8.
- KEMI, 1994. The flame retardant project. A survey of brominated alternatives to brominated diphenyl ethers. PM 3/94, National Swedish Chemicals Inspectorate, Solna, Suède.
- Kim TH, Lee YJ, Lee E, Kim MS, Kwack SJ, Kim KB, Chung KK, Kang TS, Han SY, Lee J, Lee BM, Kim HS (2009). Effects of gestational exposure to decabromodiphenyl ether on reproductive parameters, thyroid hormone levels, and neuronal development in Sprague-Dawley rats offspring. *J Toxicol Environ Health A*, 72: 1296-303.
- Kimbrough RD, Groce DF, Korver MP, Burse VW (1981). Induction of liver tumors in female Sherman strain rats by polybrominated biphenyls. *J Natl Cancer Inst*, 66: 535-42.
- Kitamura S, Suzuki T, Sanoh S, Kohta R, Jinno N, Sugihara K, Yoshihara S, Fujimoto N, Watanabe H, Ohta S (2005). Comparative study of the endocrine-disrupting activity of bisphenol A and 19 related compounds. *Toxicol Sci*, 84: 249-59.
- Kociba RJ, Frauson LO, Humiston CG, Norris JM, Wade CE, Lisowe RW, Quast JF, Jersey GC, Jewett GL (1975). Results of a two-year dietary feeding study with decabromodiphenyl oxide (DBDPO) in rats. Midland, MI: Dow Chemical Company.
- Kuriyama SN, Wanner A, Fidalgo-Neto AA, Talsness CE, Koerner W, Chahoud I (2007). Developmental exposure to low-dose PBDE-99: tissue distribution and thyroid hormone levels. *Toxicology*, 242: 80-90.
- Kuriyama SN, Talsness CE, Grote K, Chahoud I (2005). Developmental exposure to low dose PBDE 99: effects on male fertility and neurobehavior in rat offspring. *Environ Health Perspect*, 113: 149-54.
- Lans MC, Klasson-Wehler E, Willemsen M, Meussen E, Safe S, Brouwer A (1993). Structure-dependent, competitive interaction of hydroxy-polychlorobiphenyls, -dibenzo-p-dioxins and -dibenzofurans with human transthyretin. *Chem Biol Interact*, 88: 7-21.
- Lee DW, Opanashuk LA (2004). Polychlorinated biphenyl mixture aroclor 1254-induced oxidative stress plays a role in dopaminergic cell injury. *Neurotoxicology*, 25: 925-39.
- Lilienthal H, Hack A, Roth-Härer A, Grande SW, Talsness CE (2006). Effects of developmental exposure to 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether (PBDE-99) on sex steroids, sexual development, and sexually dimorphic behavior in rats. *Environ Health Perspect*, 114: 194-201.
- Liu Z, Liu J, Zhang J, Tian Y, Fang D, Huang H, Jiang Y, Zhou J, Zhang H, Mei S (2009). Effects and toxicity mechanism of 2,2',4,4'-tetrabrominated diphenyl ethers on the homeostasis of thyroid hormone system in C57BL/6 mice. *Wei Sheng Yan Jiu*, 38: 522-4.

- Lundgren M, Darnerud PO, Blomberg J, Friman G, Ilbäck NG (2009). Polybrominated diphenyl ether exposure suppresses cytokines important in the defence to coxsackievirus B3 infection in mice. *Toxicol Lett*, 184: 107-13.
- Lyman WJ (1990). Atmospheric Residence Time. In: Lyman WJ, Reehl WF, Rosenblatt DH (Eds), *Handbook of Chemical Property Estimation Methods*. Washington, DC: American Chemical Society.
- Madia F, Giordano G, Fattori V, Vitalone A, Branchi I, Capone F, Costa LG (2004). Differential in vitro neurotoxicity of the flame retardant PBDE-99 and of the PCB Aroclor 1254 in human astrocytoma cells. *Toxicol Lett*, 154: 11-21.
- Malmberg T, Athanasiadou M, Marsh G, Brandt I, Bergman A (2005). Identification of hydroxylated polybrominated diphenyl ether metabolites in blood plasma from polybrominated diphenyl ether exposed rats. *Environ Sci Technol*, 39: 5342-8.
- Marongiu A, Bozzano G, Dente M, Ranzi E, Faravelli T (2007). Detailed kinetic modeling of pyrolysis of tetrabromobisphenol A. *J Anal Appl Pyrolysis*, 80: 325-45.
- Mariussen E, Fonnum F (2003). The effect of brominated flame retardants on neurotransmitter uptake into rat brain synaptosomes and vesicles. *Neurochem Int*, 43: 533-42.
- Marsh G, Hu J, Jakobsson E, Rahm S, Bergman A (1999). Synthesis and Characterization of 32 Polybrominated Diphenyl Ethers. *Environ Sci Technol*, 33: 3033-7.
- Marsh G, Bergman A, Bladh LG, Gillner M, Jakobsson E (1998). Synthesis of p-hydroxybromodiphenyl ethers and binding to the thyroid receptor. *Organohalogen Compds*, 37: 305-8.
- Marsh G, Athanasiadou M, Athanassiadis I, Sandholm A (2006). Identification of hydroxylated metabolites in 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether exposed rats. *Chemosphere*, 63: 690-7.
- Mazdai A, Dodder NG, Abernathy MP, Hites RA, Bigsby RM (2003). Polybrominated diphenyl ethers in maternal and fetal blood samples. *Environ Health Perspect*, 111: 1249-52.
- McDonald (2002). A perspective on the potential health risks of PBDEs. *Chemosphere*, 46: 745-55.
- Meerts IA, Letcher RJ, Hoving S, Marsh G, Bergman A, Lemmen JG, van der Burg B, Brouwer A (2001). In vitro estrogenicity of polybrominated diphenyl ethers, hydroxylated PDBEs, and polybrominated bisphenol A compounds. *Environ Health Perspect*, 109: 399-407.
- Meerts IA, van Zanden JJ, Luijckx EA, van Leeuwen-Bol I, Marsh G, Jakobsson E, Bergman A, Brouwer A (2000). Potent competitive interactions of some brominated flame retardants and related compounds with human transthyretin in vitro. *Toxicol Sci*, 56: 95-104.
- Meironyté D, Norén K, Bergman A (1999). Analysis of polybrominated diphenyl ethers in Swedish human milk. A time-related trend study, 1972-1997. *J Toxicol Environ Health A*, 58: 329-41.
- Mercado-Feliciano M, Bigsby RM (2008). The polybrominated diphenyl ether mixture DE-71 is mildly estrogenic. *Environ Health Perspect*, 116: 605-11.

Montgomery KC (1955). The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory behavior. *J Comp Physiol Psychol*, 48: 254-60.

Moody RP, Yip A, Chu I (2009). Effect of cold storage on in vitro human skin absorption of six ¹⁴C-radiolabeled environmental contaminants: benzo[a]pyrene, ethylene glycol, methyl parathion, naphthalene, nonyl phenol, and toluene. *J Toxicol Environ Health A*, 72: 505-17.

Morck A, Hakk H, Orn U, Klasson Wehler E (2003). Decabromodiphenyl ether in the rat: absorption, distribution, metabolism, and excretion. *Drug Metab Dispos*, 31: 900-7.

Morris R (1984). Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods*, 11: 47-60.

Mutter J, Naumann J, Schneider R, Walach H (2007). Mercury and Alzheimer's disease. *Fortschr Neurol Psychiatr*, 75: 528-38.

Norris JM, Kociba RJ, Schwetz BA, Rose JQ, Humiston CG, Jewett GL, Gehring PJ, Mailhes JB (1975). Toxicology of octabromobiphenyl and decabromodiphenyl oxide. *Environ Health Perspect*, 11: 153-61.

NorthWest Environment Watch (2004). Flame retardants in the bodies of Pacific Northwest residents.

NTP (National Toxicology Programme) (1986). Toxicology and carcinogenesis studies of decabromodiphenyl oxide (CAS No. 1163-19-5) in R344/N rats and B6C3F1 mice (feed studies). NTP Technical Report Series No. 309.

OCDE (1998). Section 4: Effets sur la santé, Essai n°408 : Toxicité orale à doses répétées – rongeurs : 90 jours. Lignes directrices pour les essais de produits chimiques. Organisation de Coopération et de Développement Économiques. Paris, France.

Ounnas F, Feidt C, Toussaint H, Marchand P, Bizec BL, Rychen G, Jurjanz S (2010). Polychlorinated biphenyl and low polybrominated diphenyl ether transfer to milk in lactating goats chronically exposed to contaminated soil. *Environ Sci Technol*, 44 : 2682-8.

Orn U, Klasson-Wehler E (1998). Metabolism of 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether in rat and mouse. *Xenobiotica*, 28: 199-211.

Orn U, Eriksson L, Jakobsson E, Bergman A (1996). Synthesis and characterization of polybrominated diphenyl ethers - Unlabelled and radiolabelled tetra-, penta- and hexa-bromodiphenyl ethers. *Acta Chem Scand*, 50: 802-7.

Pacyniak EK, Cheng X, Cunningham ML, Crofton K, Klaassen CD, Guo GL (2007). The flame retardants, polybrominated diphenyl ethers, are pregnane X receptor activators. *Toxicol Sci*, 97: 94-102.

Palm A, Cousins IT, Mackay D, Tysklind M, Metcalfe C, Alaee M (2002). Assessing the environmental fate of chemicals of emerging concern: a case study of the polybrominated diphenyl ethers. *Environ Pollut*, 117: 195-213.

Palm A (2001). The Environmental Fate of Polybrominated Diphenyl Ethers in the centre of Stockholm – Assessment of Using a Multimedia Fugacity Model. Masters Thesis, Umea University, Stockholm, Sweden.

Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M (1985). Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods*, 14: 149-67.

Perio A, Terranova JP, Worms P, Bluthé RM, Dantzer R, Biziere K (1989). Specific modulation of social memory in rats by cholinomimetic and nootropic drugs, by benzodiazepine inverse agonists, but not by psychostimulants. *Psychopharmacology*, 97: 262-8.

Pijnenburg AM, Everts JW, de Boer J, Boon JP (1995). Polybrominated biphenyl and diphenylether flame retardants: analysis, toxicity, and environmental occurrence. *Rev Environ Contam Toxicol*, 141: 1-26.

Pohjanvirta R, Viluksela M, Tuomisto JT, Unkila M, Karasinska J, Franc MA, Holowenko M, Giannone JV, Harper PA, Tuomisto J, Okey AB (1999). Physicochemical differences in the AH receptors of the most TCDD-susceptible and the most TCDD-resistant rat strains. *Toxicol Appl Pharmacol*, 155: 82-95.

Pohjanvirta R, Wong JMY, Li W, Harper PA, Tuomisto J, Okey AB (1998). Point mutation in intron sequence causes altered carboxyl-terminal structure in the aryl hydrocarbon receptor of the most 2,3,7,8- Tetrachlorodibenzo-p-dioxin-resistant rat strain. *Mol Pharmacol*, 54: 86-93.

Pohjanvirta R, Unkila M, Tuomisto J (1993). Comparative acute lethality of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD), 1,2,3,7,8-pentachlorodibenzo-p-dioxin and 1,2,3,4,7,8-hexachlorodibenzo-p-dioxin in the most TCDD-susceptible and the most TCDD-resistant rat strain. *Pharmacol Toxicol*, 73: 52-6.

Rayne S, Ikonomou MG, Antcliffe B (2003). Rapidly increasing polybrominated diphenyl ether concentrations in the Columbia River system from 1992 to 2000. *Environ Sci Technol*, 37: 2847-54.

Reinikainen KJ, Riekkinen PJ, Halonen T, Laakso M (1987). Decreased muscarinic receptor binding in cerebral cortex and hippocampus in Alzheimer's disease. *Life Sci*, 41: 453-61.

Reistad T, Fonnum F, Mariussen E (2006). Neurotoxicity of the pentabrominated diphenyl ether mixture, DE-71, and hexabromocyclododecane (HBCD) in rat cerebellar granule cells in vitro. *Arch Toxicol*, 80: 785-96.

Rice D, Barone S Jr. (2000). Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. *Environ Health Perspect*, 108: 511-33.

Rice DC, Thompson WD, Reeve EA, Onos KD, Assadollahzadeh M, Markowski VP (2009). Behavioral changes in aging but not young mice after neonatal exposure to the polybrominated flame retardant decaBDE. *Environ Health Perspect*, 117: 1903-11.

Rice DC, Reeve EA, Herlihy A, Zoeller RT, Thompson WD, Markowski VP (2007). Developmental delays and locomotor activity in the C57BL6/J mouse following neonatal exposure to the fully-brominated PBDE, decabromodiphenyl ether. *Neurotoxicol Teratol*, 29: 511-20.

Richardson VM, Staskal DF, Ross DG, Diliberto JJ, DeVito MJ, Birnbaum LS (2008). Possible mechanisms of thyroid hormone disruption in mice by BDE 47, a major polybrominated diphenyl ether congener. *Toxicol Appl Pharmacol*, 226: 244-50.

- Richardson JR, Caudle WM, Wang M, Dean ED, Pennell KD, Miller GW (2006). Developmental exposure to the pesticide dieldrin alters the dopamine system and increases neurotoxicity in an animal model of Parkinson's disease. *FASEB J*, 20: 1695-7.
- Roosens L, Cornelis C, D'Hollander W, Bervoets L, Reynders H, Van Campenhout K, Van Den Heuvel R, Neels H, Covaci A (2010). Exposure of the Flemish population to brominated flame retardants: model and risk assessment. *Environ Int*, 36: 368-76.
- Rychen G, Ducoulombier-Crépineau C, Grova N, Jurjanz S, Feidt C (2005). Modalités et risques de transfert des polluants organiques persistants vers le lait. *INRA Prod Anim*, 18: 355-66.
- Sanders JM, Burka LT, Smith CS, Black W, James R, Cunningham ML (2005). Differential expression of CYP1A, 2B, and 3A genes in the F344 rat following exposure to a polybrominated diphenyl ether mixture or individual components. *Toxicol Sci*, 88: 127-33.
- Sandholm A, Emanuelsson BM, Wehler EK (2003). Bioavailability and half-life of decabromodiphenyl ether (BDE-209) in rat. *Xenobiotica*, 33: 1149-58.
- Schechter A, Harris TR, Shah N, Musumba A, Päpke O (2008). Brominated flame retardants in US food. *Mol Nutr Food Res*, 52: 266-72.
- Schechter A, Päpke O, Harris TR, Musumba A (2006a). Polybrominated diphenyl ether in the United States: levels in human blood and milk, food and environmental samples. *Organohal. Compds*.
- Schechter A, Päpke O, Harris TR, Tung KC, Musumba A, Olson J, Birnbaum L (2006b). Polybrominated diphenyl ether (PBDE) levels in an expanded market basket survey of U.S. food and estimated PBDE dietary intake by age and sex. *Environ Health Perspect*, 114: 1515-20.
- Schechter A, Harris TR, Päpke O, Tung KC, Musumba A (2006c). Polybrominated diphenyl ether (PBDE) levels in the blood of pure vegetarians (vegans). *Toxicol Environ Chem*, 88: 107-12.
- Schechter A, Papke O, Tung KC, Joseph J, Harris TR, Dahlgren J (2005). Polybrominated diphenyl ether flame retardants in the U.S. population: current levels, temporal trends, and comparison with dioxins, dibenzofurans, and polychlorinated biphenyls. *J Occup Environ Med*, 47: 199-211.
- Schechter A, Papke O, Tung KC, Staskal D, Birnbaum L (2004). Polybrominated diphenylethers contamination of United States food. *Environ Sci Technol*, 38: 5306-11.
- Schechter A, Pavuk M, Papke O, Ryan JJ, Birnbaum L, Rosen R (2003). Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in U.S. mothers' milk. *Environ Health Perspect*, 111: 1723-9.
- Schreiber G, Southwell BR, Richardson SJ (1995). Hormone delivery systems to the brain-transthyretin. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 103: 75-80.
- Schumacher U, Heidemann G, Skirnisson K, Schumacher W, Pickering RM (1995). Impact of captivity and contaminant level on blood parameters of harbour seals (*Phoca vitulina*). *Comp Biochem Physiol*, 112A: 455-62.

- Schuhmacher M, Kiviranta H, Ruokojärvi P, Nadal M, Domingo JL (2009). Concentrations of PCDD/Fs, PCBs and PBDEs in breast milk of women from Catalonia, Spain: a follow-up study. *Environ Int*, 35: 607-13.
- Schuur AG, Legger FF, van Meeteren ME, Moonen MJ, van Leeuwen-Bol I, Bergman A, Visser TJ, Brouwer A (1998). In vitro inhibition of thyroid hormone sulfation by hydroxylated metabolites of halogenated aromatic hydrocarbons. *Chem Res Toxicol*, 11: 1075-81.
- Selevan SG, Kimmel CA, Mendola P (2000). Identifying critical windows of exposure for children's health. *Environ Health Perspect*, 108: 451-5.
- Siavash M, Hashemipour M, Keshteli AH, Amini M, Aminorroaya A, Rezvanian H, Kachuei A, Kelishadi R (2008). Endemic goiter in Semirom; there is no difference in vitamin A status between goitrous and nongoitrous children. *J Nutr Sci Vitaminol*, 54: 430-4.
- Siddiqi MA, Laessig RH, Reed KD (2003). Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs): new pollutants-old diseases. *Clin Med Res*, 1: 281-90.
- Siegel S, Castellan NJ Jr. (1998). Nonparametrics Statistics for the Behavioral Sciences, second edition, 399 pp. New York: McGraw-Hill.
- Simon P, Dupuis R, Costentin J (1994). Thigmotaxis as an index of anxiety in mice. Influence of dopaminergic transmissions. *Behav Brain Res*, 61: 59-64.
- Sjodin A, Wong LY, Jones RS, Park A, Zhang Y, Hodge C, Dipietro E, McClure C, Turner W, Needham LL, Patterson DG Jr. (2008). Serum concentrations of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polybrominated biphenyl (PBB) in the United States population: 2003-2004. *Environ Sci Technol*, 42: 1377-84.
- Sjodin A, Patterson DG Jr., Bergman A (2003). A review on human exposure to brominated flame retardants--particularly polybrominated diphenyl ethers. *Environ Int*, 29: 829-39.
- Sjodin A, Carlsson H, Thuresson K, Sjölin S, Bergman A (2001). Flame retardant in indoor air at an electronics recycling plant and at other work environments. *Environ Sci Technol*, 35: 448-54.
- Sjodin A, Hagmar L, Klasson-Wehler E, Bjork J, Bergman A (2000). Influence of the consumption of fatty Baltic Sea fish on plasma levels of halogenated environmental contaminants in Latvian and Swedish men. *Environ Health Perspect*, 108: 1035-41.
- Sjodin A, Hagmar L, Klasson-Wehler E, Kronholm-Diab K, Jakobsson E, Bergman A (1999). Flame retardant exposure: polybrominated diphenyl ethers in blood from Swedish workers. *Environ Health Perspect*, 107: 643-8.
- Skarman E, Darnerud PO, Ohrvik H, Oskarsson A (2005). Reduced thyroxine levels in mice perinatally exposed to polybrominated diphenyl ethers. *Environ Toxicol Pharmacol*, 19: 273-81.
- Stapleton HM, Sjodin A, Jones RS, Niehüser S, Zhang Y, Patterson DG Jr. (2008). Serum levels of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in foam recyclers and carpet installers working in the United States. *Environ Sci Technol*, 42: 3453-8.
- Stapleton HM, Harner T, Shoeib M, Keller JM, Schantz MM, Leigh SD, Wise SA (2006). Determination of polybrominated diphenyl ethers in indoor dust standard reference materials. *Anal Bioanal Chem*, 384: 791-800.

Stapleton HM, Dodder NG, Offenberger JH, Schantz MM, Wise SA (2005). Polybrominated diphenyl ethers in house dust and clothes dryer lint. *Environ Sci Technol*, 39: 925-31.

Staskal DF, Diliberto JJ, Birnbaum LS (2006). Disposition of BDE 47 in developing mice. *Toxicol Sci*, 90: 309-16.

Stoker TE, Laws SC, Crofton KM, Hedge JM, Ferrell JM, Cooper RL (2004). Assessment of DE-71, a commercial polybrominated diphenyl ether (PBDE) mixture, in the EDSP male and female pubertal protocols. *Toxicol Sci*, 78: 144-55.

Strack S, Detzel T, Wahl M, Kuch B, Krug HF (2007). Cytotoxicity of TBBPA and effects on proliferation, cell cycle and MAPK pathways in mammalian cells. *Chemosphere*, 67: S405-11.

Strandman T, Koistinen J, Vartiainen T (2000). Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in placenta and human milk. *Organohal Compds*, 47: 61-4.

Suvorov A, Girard S, Lachapelle S, Abdelouahab N, Sebire G, Takser L (2009). Perinatal exposure to low-dose BDE-47, an emergent environmental contaminant, causes hyperactivity in rat offspring. *Neonatology*, 95: 203-9.

Szabo DT, Richardson VM, Ross DG, Diliberto JJ, Kodavanti PR, Birnbaum LS (2009). Effects of perinatal PBDE exposure on hepatic phase I, phase II, phase III, and deiodinase 1 gene expression involved in thyroid hormone metabolism in male rat pups. *Toxicol Sci*, 107: 27-39.

Tagliaferri S, Caglieri A, Goldoni M, Pinelli S, Alinovi R, Poli D, Pellacani C, Giordano G, Mutti A, Costa LG (2010). Low concentrations of the brominated flame retardants BDE-47 and BDE-99 induce synergistic oxidative stress-mediated neurotoxicity in human neuroblastoma cells. *Toxicol In Vitro*, 24: 116-22.

Talsness CE, Kuriyama SN, Sterner-Kock A, Schnitker P, Grande SW, Shakibaei M, Andrade A, Grote K, Chahoud I (2008). In utero and lactational exposures to low doses of polybrominated diphenyl ether-47 alter the reproductive system and thyroid gland of female rat offspring. *Environ Health Perspect*, 116: 308-14.

Talsness CE, Shakibaei M, Kuriyama SN, Grande SW, Sterner-Kock A, Schnitker P, de Souza C, Grote K, Chahoud I (2005). Ultrastructural changes observed in rat ovaries following in utero and lactational exposure to low doses of a polybrominated flame retardant. *Toxicol Lett*, 157: 189-202.

Tavris C, Wade C (1999). Introduction à la psychologie. Les grandes perspectives. Paris, Bruxelles : De Boeck.

Thiruchelvam M, Richfield EK, Goodman BM, Baggs RB, Cory-Slechta DA (2002). Developmental exposure to the pesticides paraquat and maneb and the Parkinson's disease phenotype. *Neurotoxicology*, 23: 621-33.

Thomsen C, Liane V, Froshaug M, Becher G (2005). Levels of brominated flame retardant in human samples from Norway through three decades. *Organohal Compds*, 658-661.

Thomsen C, Lundanes E, Becher G (2002). Brominated flame retardants in archived serum samples from Norway: a study on temporal trends and the role of age. *Environ Sci Technol*, 36: 1414-8.

Thor DH, Holloway WR (1982). Social memory of the male laboratory rat. *J Comp Physiol Psychol*, 96: 1000-6.

Thuresson K, Hoglund P, Hagmar L, Sjodin A, Bergman A, Jakobsson K (2006). Apparent half-lives of hepta- to decabrominated diphenyl ethers in human serum as determined in occupationally exposed workers. *Environ Health Perspect*, 114: 176-81.

Thuvender A, Darnerud PO (1999). Effects of polybrominated diphenyl ether (PBDE) and polychlorinated biphenyl (PCB) on some immunological parameters after oral exposure in rats and mice. *Toxicol Environ Chem*, 70: 229-42.

Touchon J, Portet F (2002). La maladie d'Alzheimer. 173 p. Paris : Masson.

Tseng LH, Li MH, Tsai SS, Lee CW, Pan MH, Yao WJ, Hsu PC (2008). Developmental exposure to decabromodiphenyl ether (PBDE 209): effects on thyroid hormone and hepatic enzyme activity in male mouse offspring. *Chemosphere*, 70: 640-7.

Tseng LH, Lee CW, Pan MH, Tsai SS, Li MH, Chen JR, Lay JJ, Hsu PC (2006). Postnatal exposure of the male mouse to 2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-decabrominated diphenyl ether: decreased epididymal sperm functions without alterations in DNA content and histology in testis. *Toxicology*, 224: 33-43.

Tsushimoto G, Trosko JE, Chang CC, Aust SD (1982). Inhibition of metabolic cooperation in Chinese hamster V79 cells in culture by various polybrominated biphenyl (PBB) congeners. *Carcinogenesis*, 3: 181-5.

Tubiana M (2002). The aged: medical and social aspects. *C R Biol*, 325: 699-717.

Unkila M, Pohjanvirta R, MacDonald E, Tuomisto JT, Tuomisto J (1994). Dose response and time course of alterations in tryptophan metabolism by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in the most TCDD-susceptible and the most TCDD-resistant rat strain: relationship with TCDD lethality. *Toxicol Appl Pharmacol*, 128: 280-92.

US EPA (US Environmental Protection Agency) (1996). Exposure factors handbook. National Centre for Environmental Assessment, Office of Research and Development.

US EPA (US Environmental Protection Agency) (1997). Exposure factors handbook. National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development Washington DC, EPA/600/P-95/002Fa.

US EPA (US Environmental Protection Agency) (2002). Child-Specific Exposure Factors Handbook. National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development, Washington DC, EPA-600-P-00-002B.

van der Ven LT, van de Kuil T, Verhoef A, Leonards PE, Slob W, Cantón RF, Germer S, Hamers T, Visser TJ, Litens S, Håkansson H, Fery Y, Schrenk D, van den Berg M, Piersma AH, Vos JG (2008a). A 28-day oral dose toxicity study enhanced to detect endocrine effects of a purified technical pentabromodiphenyl ether (pentaBDE) mixture in Wistar rats. *Toxicology*, 245: 109-22.

van der Ven LT, van de Kuil T, Leonards PE, Slob W, Cantón RF, Germer S, Visser TJ, Litens S, Hakansson H, Schrenk D, van den Berg M, Piersma AH, Vos JG, Opperhuizen A (2008b). A 28-day oral dose toxicity study in Wistar rats enhanced to detect endocrine effects of decabromodiphenyl ether (decaBDE). *Toxicol Lett*, 179: 6-14.

- Viberg H, Fredriksson A, Eriksson P (2007). Changes in spontaneous behaviour and altered response to nicotine in the adult rat, after neonatal exposure to the brominated flame retardant, decabrominated diphenyl ether (PBDE 209). *Neurotoxicology*, 28: 136-42.
- Viberg H, Fredriksson A, Eriksson P (2005). Deranged spontaneous behaviour and decrease in cholinergic muscarinic receptors in hippocampus in the adult rat, after neonatal exposure to the brominated flame-retardant, 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether (PBDE 99). *Environ Toxicol Pharmacol*, 20: 283-8.
- Viberg H, Fredriksson A, Eriksson P (2004). Neonatal exposure to the brominated flame-retardant, 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether, decrease cholinergic nicotinic receptors in hippocampus and affects spontaneous behaviour in the adult mouse. *Environ Toxicol Pharmacol*, 17: 61-5.
- Viberg H, Fredriksson A, Jakobsson E, Orn U, Eriksson P (2003a). Neurobehavioral derangements in adult mice receiving decabrominated diphenyl ether (PBDE 209) during a defined period of neonatal brain development. *Toxicol Sci*, 76: 112-20.
- Viberg H, Fredriksson A, Eriksson P (2003b). Neonatal exposure to polybrominated diphenyl ether (PBDE 153) disrupts spontaneous behaviour, impairs learning and memory, and decreases hippocampal cholinergic receptors in adult mice. *Toxicol Appl Pharmacol*, 192: 95-106.
- Viberg H, Fredriksson A, Eriksson P (2002). Neonatal exposure to the brominated flame retardant 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether causes altered susceptibility in the cholinergic transmitter system in the adult mouse. *Toxicol Sci*, 67: 104-7.
- Wania F, Dugani CB (2003). Assessing the long-range transport potential of polybrominated diphenyl ethers: a comparison of four multimedia models. *Environ Toxicol Chem*, 22: 1252-61.
- Watanabe W, Shimizu T, Sawamura R, Hino A, Konno K, Hirose A, Kurokawa M (2010). Effects of tetrabromobisphenol A, a brominated flame retardant, on the immune response to respiratory syncytial virus infection in mice. *Int Immunopharmacol*, 10: 393-7.
- Wenning RJ (2002). Uncertainties and data needs in risk assessment of three commercial polybrominated diphenyl ethers: probabilistic exposure analysis and comparison with European Commission results. *Chemosphere*, 46: 779-96.
- Wilford BH, Shoeib M, Harner T, Zhu J, Jones KC (2005). Polybrominated diphenyl ethers in indoor dust in Ottawa, Canada: implications for sources and exposure. *Environ Sci Technol*, 39: 7027-35.
- Wilford BH, Harner T, Zhu J, Shoeib M, Jones KC (2004). Passive sampling survey of polybrominated diphenyl ether flame retardants in indoor and outdoor air in Ottawa, Canada: implications for sources and exposure. *Environ Sci Technol*, 38: 5312-8.
- Wolkers H, Boily F, Fink-Gremmels J, van Bavel B, Hammill MO, Primicerio R (2009). Tissue-specific contaminant accumulation and associated effects on hepatic serum analytes and cytochrome P450 enzyme activities in hooded seals (*Cystophora cristata*) from the Gulf of St. Lawrence. *Arch Environ Contam Toxicol*, 56: 360-70.
- Wright JM, Keller-Byrne J (2005). Environmental determinants of Parkinson's disease. *Arch Environ Occup Health*, 60: 32-8.

Wu Y, Yu YH, Chen DJ, Jiang HP (2008). Effect of maternal BDE-209 exposure on the learning and memory ability of offspring rats and the dose-effect relation. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 28: 976-8.

Yu K, He Y, Yeung LW, Lam PK, Wu RS, Zhou B (2008). DE-71-induced apoptosis involving intracellular calcium and the Bax-mitochondria-caspase protease pathway in human neuroblastoma cells in vitro. *Toxicol Sci*, 104: 341-51.

Zennegg M, Kohler M, Gerecke AC, Schmid P (2003). Polybrominated diphenyl ethers in whitefish from Swiss lakes and farmed rainbow trout. *Chemosphere*, 51: 545-53.

Zhou J, Chen DJ, Liao QP, Yu YH (2006). Impact of PBDE-209 exposure during pregnancy and lactation on immune function of offspring rats. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 26: 738-41.

Zhou T, Taylor MM, DeVito MJ, Crofton KM (2002). Developmental exposure to brominated diphenyl ethers results in thyroid hormone disruption. *Toxicol Sci*, 66: 105-16.

Zhou T, Ross DG, DeVito MJ, Crofton KM (2001). Effects of short-term in vivo exposure to polybrominated diphenyl ethers on thyroid hormones and hepatic enzyme activities in weanling rats. *Toxicol Sci*, 61: 76-82.

Sites internet

<http://chm.pops.int/>

http://www.pops.int/documents/convtext/convtext_fr.pdf

http://www.pops.int/documents/meetings/poprc_2/meeting_docs/langs/2_7/K0652375.F.pdf

<http://ecb.jrc.ec.europa.eu/esis/>

<http://www.francealzheimer.org/>

<http://www.senat.fr>

Risques chimiques au quotidien : éthers de glycol et polluants de l'air intérieur. Quelle expertise pour notre santé ? (tome 1). Rapport n° 176 (2007-2008) déposé le 23 janvier 2008.

Article scientifique

Neurobehavioral and physiological effects of low doses of polybrominated diphenyl ether (PBDE)-99 in male adult rats

Stéphanie Daubié^{a,b,*}, Jean-François Bisson^b, Robert Lalonde^c, Henri Schroeder^a, Guido Rychen^a

^a URAFPA, INRA UC340, Nancy Université, BP 172, 54505 Vandoeuvre-lès-Nancy Cedex, France

^b ETAP-Ethologie Appliquée, Plate-Forme des Biotechnologies des Sciences du Vivant & Santé, Technopôle de Nancy-Brabois, 13 rue du Bois de la Champelle, 54500 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

^c Centre Hospitalier Universitaire de Montréal/St-Luc, Centre de Recherche en Sciences Neurologiques, 1058 rue St-Denis, Montréal, PQ Canada H2X 3J4

* Corresponding author at: ETAP-Applied Ethology, Technopôle de Nancy-Brabois, 13 rue du Bois de la Champelle, 54500 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

Tel. 33 (0)383 444 635; Fax: 33 (0)383 446 441 - E-mail: sdaubie@etap-lab.com

Abstract

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are flame retardants. Because of their high lipophilicity and persistence, PBDEs bioaccumulate in all abiotic and biological matrices. The aim of this study was to investigate the long-term neurobehavioral and physiological effects of exposure to environmental doses of PBDE-99 in adult rats. Rats received a daily administration of PBDE-99 for 90 days by oral gavage at 0.15, 1.5 and 15 µg/kg, doses which are relevant of human exposure. Before and after the 90 days of exposure, behavioral tests including the open-field and the elevated plus-maze tests for locomotor activity and anxiety, and the Morris water maze for spatial learning were conducted. Physiological measures such as body weight, food and water consumption, organs weight, hepatic enzymes levels and PBDE-99 concentration in adipose tissue were also evaluated at the end of exposure. There was no effect on body weight, food and water consumption, organs weight, hepatic enzymes levels despite rising PBDE-99 concentration in adipose tissue with the doses tested. Moreover, there was no effect on locomotor activity and exploration, and spatial learning. Deleterious effects of PBDE-99 at high doses have often been highlighted in many studies after an acute dose whereas exposure during 90 days at realistic doses would have no significant effect in adult rats.

Keywords: PBDE-99; Locomotor activity; Learning; Memory; Anxiety; Adult rats.

1. Introduction

Brominated flame retardants are a group of industrial compounds used to retard, suppress or inhibit combustion processes to reduce fire risks (IPCS, 1994). Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are used as additive flame retardants in electrical and electronic appliances, building materials, polyurethane foams, coatings, textiles (Birnbaum and Staskal, 2004; Darnerud et al., 2001). Their chemical formula is $C_{12}H_{(10-n)}Br_nO$ ($1 < n < 10$) with the sum of H and Br atoms always equal to 10. The theoretical number of possible congeners is 209, varying in number and position of Br atom, and divided into 10 congener groups (mono to decabromodiphenyl ethers) (Birnbaum and Staskal, 2004; Darnerud et al., 2001). Being added to polymers as additive, PBDEs are not chemically bound to the material and can be released and dispersed into the surrounding environment.

Because of their high lipophilicity and persistence, PBDEs bioaccumulate in all abiotic samples (soil, water, air, sewage sludge, sediments), terrestrial ecosystems including humans, freshwater and marine ecosystems (Birnbaum and Staskal, 2004). Humans may be exposed to these compounds through food of animal origin, particularly fish (Domingo, 2004; Jones-Otazo et al. 2005) or ingestion and inhalation of dust (Jones-Otazo et al. 2005; Wilford et al., 2005). Since their introduction in 1970s, the levels of PBDEs have exponentially increased in the environment, wildlife and human (adipose tissue, serum and breast milk) (Costa and Giordano, 2007; Meironyté et al., 1999; Rayne et al., 2003). Moreover, the environmental PBDE concentrations still increase each year (He et al., 2009; Hites, 2004) in contrast to other environmentally persistent contaminants such as polychlorinated biphenyls (PCBs), dioxins and furans which concentrations in human decreased in the last 20 years (Schechter et al., 2005; Schuhmacher et al., 2009). PBDE tissue levels in humans differ from one continent to another. Indeed, PBDE concentrations in breast milk, serum or adipose tissue appear to be 10-70 times higher in the United States than in Europe (Schechter et al., 2003; Sjödin et al., 2008). These differences would be related to usage of PBDEs and to a less stringent regulation in the United States (Darnerud et al., 2001).

PBDE-99 (2,2',4,4',5-pentabromodiphenylether) is one of the most persistent congeners. It is one of the most frequently found and at highest levels in almost all environmental samples including human tissues (Darnerud et al. 2001; de Wit, 2002; Inoue et al., 2006; Schechter et al. 2003,2006). PBDE-99 is commonly found in human milk and cord blood (Norén and Meironyté, 2000; Schuhmacher et al., 2009). This compound was the main component of the commercial pentaBDE mixture, used as additive in polyurethane foam for cushioning in upholstery (Birnbaum and Staskal, 2004). Although this commercial mixture has been banned in European Union since 2004 by the directive 2003/11/EC, many

materials containing this mixture are still into circulation and continually emit congeners in the environment. Consequently, the rate of these pollutants is increasing in different biological matrices.

Since the chemical structure of PBDEs and their metabolites are similar to other environmentally persistent contaminants such as PCBs, dioxins and furans, their toxicological properties are predicted to be comparable (Coburn et al., 2007; Kodavanti and Ward, 2005). PBDEs are known to induce neurobehavioral toxicity in rodents, particularly in case of developmental exposure (Branchi et al., 2002, 2003, 2005; Cheng et al., 2009; Costa and Giordano, 2007; Eriksson et al., 2001). Indeed, prenatal or perinatal exposure to PBDE-99 in Wistar rats or CD-mice treated with a single oral dose of 60 µg/kg or 300 µg/kg or at a dose of 18 mg/kg caused hyperactivity in the offspring (Branchi et al., 2005; Kuriyama et al., 2005). Learning and memory functions were affected in rats having received a dose of 2 mg/kg of PBDE-99 (Cheng et al., 2009) or 300, 600 and 1200 mg/kg of PBDE-209 (Wu et al., 2008), during gestation and lactation. Postnatal exposure to PBDE-99 in NMR1 mice or Sprague-Dawley rats at the age of 10 days with a single oral dose of 0.8 mg/kg, 8 mg/kg or 12 mg/kg resulted in aberrations in spontaneous behaviour (hypoactivity at the beginning of the test and hyperactivity at the end of the test) (Eriksson et al., 2001; Viberg et al., 2004, 2005) with effects being more pronounced with increasing age (Eriksson et al., 2001). In addition, NMR1 mice or Sprague-Dawley rats exposed on PND-10 at doses of 1 mg/kg, 5 mg/kg or 10 mg/kg of PBDE-47 or at dose of 12 mg/kg of PBDE-99 exhibit learning and memory alterations (Eriksson et al., 2001; He et al., 2009).

Neurotoxic effects of PBDE-99 have indeed been observed but at very high doses (some mg/kg). Actually, doses of human exposure to this pollutant were much lower and there is no information available on its effects at environmental levels. Moreover, PBDEs are generally administered in rodents in high acute doses which do not reflect pollution to which humans are exposed. The aim of the present study was therefore to investigate in adult rats the long-term neurobehavioral and physiological effects of exposure to environmental doses of PBDE-99 for 90 days according to the recommendations of the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) test guideline 408 (OECD, 1998). The tested doses of 0.15, 1.5 and 15 µg/kg, which are relevant to human exposure levels (Jones-Otazo et al., 2005; USEPA, 2002), were used in evaluating open-field and elevated plus-maze tests for locomotor activity and anxiety, and water maze test for spatial memory adapted from Morris (1984). The rats were also assessed for body weight, food and water consumption, organs weight, hepatic enzymes levels and PBDE-99 concentration in adipose tissue.

2. Materials and methods

2.1. Animals

Thirty-two male Sprague-Dawley rats (Harlan, the Netherlands) weighing 160-180 g at the start of the experiments were housed in groups of two inside 48 cm x 27 cm x 20 cm polycarbonate cages (UAR, Epinay-sur-Orge, France) under stable conditions with respect to temperature ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$) and humidity ($50\pm 10\%$). The rats were maintained on a 12 h light/12 h dark cycle (lights on at 9.00 pm-9.00 am). Food pellets (Harlan, Gannat, France) and tap water were provided *ad libitum*. After a 7-day adaptation period, the rats were weighed and randomly assigned to one of the four treatment groups (n=8): control-vehicle or PBDE-99 at 0.15, 1.5 and 15 $\mu\text{g/kg}$ (BDE 0.15, BDE 1.5 and BDE 15, respectively).

The animal care unit is authorized by the French Ministries of Agriculture and Research (Government Authorization No. 54-547-1). The experiments adhered to guidelines provided by the ASAB Ethical Committee for the use of animals in research (Anim. Behav. 71 (2006) 245-254) and the Canadian Council on Animal Care (Guide to the Care and Use of Experimental Animals), 2nd ed., vol. 2 (1993); 1st ed., vol. 1 (1984). All procedures were also in compliance with the rules provided by the European Community Council Directive 86/609/EEC on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for scientific purposes (Off. J. L358 (18 December 1986) 0001-0028).

2.2. Chemical and treatment

PBDE-99 (2,2',4,4',5-pentabromodiphenylether) was synthesized at the Department of Environmental Chemistry, University of Stockholm, Sweden (Marsh et al., 1999; Örn et al., 1996) and its purity exceeded 98%. The PBDE-99 solution was prepared by mixing the compound with corn oil and then sonicating the mixture at room temperature for 45 min. The substance was daily orally administered (gavage) at a volume of 5 ml/kg BW for 90 days. Control rats received corn oil with the same volume of administration and during the same period.

Due to the necessity to administer exact doses of the studied products by gavages, 16-gauge x 3-in. intragastric feeding needles with a ball tip (Poppers and Sons, Inc., New York, USA) were used by experienced researcher. These needles were used to prevent their introduction into the trachea and to prevent trauma to the oral cavity and to the esophagus.

In general, after two oral treatment sessions, the rats habituated to the oral administration procedure.

2.3. Behavioral tests

Behavioral tests were performed before and after the 90 days of exposure to PBDE-99 in compliance with OECD test guideline 408 for repeated dose 90-day oral toxicity study in rodents (OECD, 1998). All the animals underwent the behavioral tests before being sacrificed to allow physiological measures. Two weeks have been necessary to conduct the complete behavioral testing both before and after exposure to PBDE-99. All tests were conducted under red dim light during the first hours of the dark cycle and animal behaviors were recorded using a video camera and a recorder (Sony video system). Then, data were scored from videotapes by a human trained observer unaware of group treatments.

2.3.1. Elevated plus-maze test

Exploration and the level of anxiety of rats were measured 15 days before and 90 days after the start of exposure in the elevated plus-maze. The apparatus was constructed from plasticized wood with two open (50 cm x 20 cm) and two enclosed arms (wall height: 40 cm) placed on opposite sides at a height of 80 cm. The four arms extended from a common central platform (20 cm x 20 cm). The rat was placed in the center with its head turned towards an enclosed arm and was left to explore the apparatus in a single 5-min session. The number of entries and the time spent inside each arm were measured.

2.3.2. Open-field test

Thirteen days before and 92 days after the start of exposure, general exploratory activities were tested in the open-field made of Plexiglas which consisted of a circular arena measuring 60 cm in diameter with 50 cm high walls, divided into 9 equal areas: the central zone (white floor, 10 cm in diameter) and 8 peripheral areas. Each rat was placed in the center of the arena and tested for 3 min. The number of squares crossed (movements in the horizontal plane), the number and the time of rearings (movements in the vertical plane) were recorded. The time spent in the center of the arena was also recorded to estimate anxiety of rats. The floor was cleaned with a diluted alcohol solution and dried before introduction of each animal to reduce odor clues.

2.3.3. Morris water maze test

This test was performed 7 days before and 98 days after the start of exposure. The circular tank measured 150 cm in diameter with 50-cm high walls and was filled with water

($25\pm 1^{\circ}\text{C}$) made opaque by the addition of a white powder Blanc d'Espagne (reference 5582, droguerie Lorraine "à l'arc-en-ciel", Nancy, France). The Morris water maze was virtually divided into four equal quadrants. An escape platform (20 cm in diameter), made invisible for rats by opacification of the water, was hidden 1.5 cm below the water surface at the center of the northwest quadrant of the tank. Before starting the PBDE-99 exposure, two daily sessions were conducted that consisted in each session to place the rat in the water facing the wall of the pool at one of the four starting positions (north, south, east, west) for 4 trials with a maximal duration of 60s. When finding the platform, the rat was allowed to stay on it for 15s. Whenever unable to find the platform, the rat was guided to it by the experimenter and allowed to stay on it for the same time, and then placed back into the water for the next trial from another starting position. A third session was performed on the third day during which the rat was tested in a single trial (retest). For that, the rat was placed in the maze at the same starting position as used in the first session with a maximal duration of 60s.

After 90 days of PBDE-99 exposure, a 4-trial session was performed the first day with the same procedure described above. The two following days, the rat was tested according to a retest procedure at the day 2 whereas a 1-trial probe test, in which the escape platform was removed, was performed at the day 3. In all test sessions, the escape latency to find the platform or to reach its former place was measured to evaluate the rat's spatial learning performances. In the probe test, the number of crossings at the former platform location, the number of entries in the PF (platform) quadrant and the time spent in this PF quadrant were recorded in order to assess the retention of the task.

2.4. Body weight change and food and water consumption

The body weight of each rat and food and water consumption of each cage were recorded three times a week during the whole experimental period in order to estimate the quantity of food and water ingested by rats. The mean quantities of food and water were calculated in g/100 g body weight for rats of each cage.

2.5 Hepatic enzymes levels

After the behavioural testing performed, i.e., 104 days after the start of exposure to PBDE-99, blood was collected from the tail vein to assess hepatic enzyme levels of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), gamma-glutamyltransferase (GGT), and alkaline phosphatase (AP). Tests were performed in serum, using reagent kit 7D81 (AST), 7D56 (ALT), 7D65 (GGT), 7D55-21 and 7D55-31

(AP) and ARCHITECT ci8200 automated analyser for all the analytes (Abbott Diagnostics, Rungis, France).

2.6 Organ weight

On day 105 after the start of exposure to PBDE-99, rats were sacrificed under anaesthesia. Liver, brain, spleen, kidneys and thymus were taken and weighed before being stored at -80°C.

2.7. PBDE-99 levels in the adipose tissue

Adipose tissue in the abdominal area was also collected at the same time as the taking of organs and stored at -80°C until the analyses of PBDE-99 levels. Because of necessary significant quantity of adipose tissue to perform PBDE-99 dosages, an equivalent quantity of adipose tissue of rats of the same group were pooled and homogenized with an ultra-turrax T25 grinder (Janke and Kunkel, IKA-Labortechnik, Stauffel, Germany). The analysis of PBDE-99 was carried out at LABERCA (Nantes, ENV, France) upon the accredited system ISO 17025. Dosages were made as described by Ounnas et al. (2010).

2.8. Statistical analysis

Due to the relatively small number of rats per group, and due to unequal variances, non-parametric tests (Siegel and Castellan, 1998) were used. The Kruskal-Wallis test was used to detect differences between the 4 groups; whenever significant, the Mann-Whitney U test was used for independent group comparisons. The Wilcoxon test was used for repeated measurements. All statistical analyses were carried out with Statview® 5 software (SAS Inc., Cary, NC, USA). The results are expressed as means and their standard error of the mean (SEM). Differences were considered to be significant at the level of $p < 0.05$.

3. Results

No obvious sign of sickness appeared in PBDE-99-treated rats over the course of the experimental period. However, at the start of the study, one rat died in each PBDE-99-treated group for an undetermined reason. As shown in Table 1, body weights of rats at day 0 (D0) and at day 90 (D90) did not differ significantly between the four treatment groups [Kruskal-Wallis test: $H_{(3df)} = 2.72$; $p = 0.45$, and $H_{(3df)} = 1.35$; $p = 0.72$, respectively]. The mean body weight change (MBWC) of rats of the different groups was not significantly

different after the 90-day period of PBDE-99 exposure [Kruskal-Wallis test: $H_{(3df)} = 1.21$; $p = 0.75$].

3.1. Elevated plus-maze

Whatever the moment of testing, before and after exposure to PBDE-99, no significant difference was observed between the 4 groups of treatment for all the variables measured in the maze as the number of entries into open arms [$H_{(3df)} = 1.82$; $p = 0.61$ and $H_{(3df)} = 3.02$; $p = 0.39$], the number of entries into closed arms [$H_{(3df)} = 3.73$; $p = 0.29$ and $H_{(3df)} = 3.26$; $p = 0.35$], the total arm entries [$H_{(3df)} = 3.55$; $p = 0.32$ and $H_{(3df)} = 1.37$; $p = 0.71$], the open arm duration [$H_{(3df)} = 2.34$; $p = 0.51$ and $H_{(3df)} = 4.17$; $p = 0.24$] and the enclosed arm duration [$H_{(3df)} = 1.42$; $p = 0.70$ and $H_{(3df)} = 1.10$; $p = 0.78$] (Table 2).

3.2. Open-field test

As indicated in Table 3, there was no significant difference between the 4 groups of treatment both before and after the exposure to PBDE-99 in the number of squares crossed [$H_{(3df)} = 5.52$; $p = 0.14$ and $H_{(3df)} = 2.13$; $p = 0.55$], the number of rearings [$H_{(3df)} = 3.26$; $p = 0.35$ and $H_{(3df)} = 4.37$; $p = 0.22$], the time of rearings [$H_{(3df)} = 2.38$; $p = 0.50$ and $H_{(3df)} = 5.96$; $p = 0.11$] and the time spent in the central zone [$H_{(3df)} = 6.24$; $p = 0.10$ and $H_{(3df)} = 4.02$; $p = 0.26$]. When compared the behavioural performances recorded before and after the PBDE-99 exposure, the number of squares crossed significantly decreased over time in control, BDE 0.15 and BDE 1.5-treated groups ($p = 0.01$, $p = 0.02$ and $p = 0.02$, respectively), and was borderline in the BDE 15-treated group ($p = 0.06$). Over the same period, rats treated with the higher dose of PBDE-99 significantly increased their time of rearings ($p = 0.04$) and decreased their time spent in the central zone ($p = 0.03$) unlike control ($p = 0.48$ and $p > 0.99$, respectively), BDE 0.15 ($p = 0.18$ and $p = 0.50$, respectively) and BDE 1.5 ($p = 0.18$ and $p = 0.67$, respectively) groups (Table 3).

3.3. Water maze test

The Kruskal-Wallis test did not show any significant difference in the latencies to find the platform measured in the four groups during the 1st and the 3rd trial of the first session performed both before [$H_{(3df)} = 0.81$; $p = 0.85$ and $H_{(3df)} = 3.89$; $p = 2.74$, respectively] and after 90 days of exposure [$H_{(3df)} = 1.94$; $p = 0.59$ and $H_{(3df)} = 0.65$; $p = 0.89$, respectively]. Likewise, on day 1, no significant difference was observed for the mean times to find the platform whatever the moment of testing (before exposure: $H_{(3df)} = 0.72$; $p = 0.87$ and after 90 days of

exposure: $H_{(3df)} = 1.92$; $p = 0.59$). A lack of significant difference was also observed during the retest session before [$H_{(3df)} = 1.78$; $p = 0.62$] and after exposure [$H_{(3df)} = 5.12$; $p = 0.16$].

During the probe test, evaluated only at follow-up, no significant difference was found for latency to find the former site of the platform [$H_{(3df)} = 3.16$; $p = 0.37$], number of crossings through this former site [$H_{(3df)} = 2.25$; $p = 0.52$], number of entries in the PF quadrant [$H_{(3df)} = 6.69$; $p = 0.08$], and time spent in the PF quadrant [$H_{(3df)} = 2.73$; $p = 0.44$] of the 4 treatment groups.

When compared the mean time to find the platform over the 4 trials of day 1 measured before and after the PBDE-99 exposure, all groups of rats improved their performances (controls and PBDE-99-treated groups (0.15, 1.5 and 15 $\mu\text{g/kg}$): $p = 0.04$, $p = 0.01$, $p = 0.06$ and $p = 0.02$, respectively), suggesting a lack of effects of this compound on the long-term memory (Table 4).

3.4. Food and water consumption

No significant difference was observed between the food and water consumption of rats of the 4 treatment groups recorded throughout the study period (data not shown).

3.5. Organ weight

There was no significant difference in organ weight of rats of the 4 treatment groups at the end of the study for liver, brain, kidneys, spleen and thymus [$H_{(3df)} = 3.46$, $p = 0.33$; $H_{(3df)} = 3.90$, $p = 0.27$; $H_{(3df)} = 1.46$, $p = 0.69$; $H_{(3df)} = 1.83$, $p = 0.61$; $H_{(3df)} = 0.89$, $p = 0.83$, respectively] (data not shown).

3.6. Hepatic enzyme levels

Hepatic enzyme levels are shown in Table 5. The Kruskal-Wallis test did not show any significant difference concerning hepatic enzyme levels regarding AST [$H_{(3df)} = 3.16$, $p = 0.37$], ALT [$H_{(3df)} = 1.68$, $p = 0.64$], GGT [$H_{(3df)} = 1.87$, $p = 0.60$], and AP [$H_{(3df)} = 1.72$, $p = 0.63$] of all groups of rats.

3.7. PBDE-99 concentration in adipose tissue

As indicated in Table 6, PBDE-99 levels in adipose tissue of control rats and PBDE-99-treated rats were proportional with doses of this pollutant received during the period of exposure to this compound. No statistical analysis was possible on these data as for each

experimental group samples of fat mass of each rat were pooled to get enough material to perform the dosages.

4. Discussion

In most studies, PBDEs have been administered at high acute doses, not reflecting levels and duration of pollution to which humans are exposed. While the neurotoxic effects of high doses of PBDEs in developing rodents have often been demonstrated, there is no information on the effects of long-term exposure to environmental doses of PBDEs in adult organism. Moreover, occupational exposure is an important potential source of PBDE exposure (Bellés et al., 2010). The main purpose of the present study was to determine whether long-term exposure to environmental doses (0.15, 1.5 and 15 μ g/kg BW) of PBDE-99, one of the most prevalent PBDEs, caused or not neurobehavioral and physiological deficits in adult rats. The test doses used are believed to be most relevant to human exposure and are approximately 1000-10000 times lower than those given in other existing studies. Indeed, according to Jones-Otazo et al. (2005) and USEPA (2002), the estimated daily intake of total PBDEs in humans could vary from 1000 to 10000 ng/day, corresponding to doses between 14 and 140 ng/kg/day which should be multiplied by 10 to be applicable to the faster metabolism of rats (Allen et al., 1994).

No significant difference was observed in body weight, MBWC, or food and water consumption between controls and rats treated with PBDE-99 recorded throughout the 90-day study period. Moreover, there was no significant difference between the weight ratios of organs such as liver, brain, kidneys, spleen and thymus or between the hepatic enzymes levels (AST, ALT, GGT and AP). According to Dunnick and Nyska (2009) and van der Ven et al. (2008), the liver appeared to be a key target organ of PBDEs showing an increase in weight and the induction of P450 enzymes, notably CYP1A and CYP2B, which are involved in the biotransformation of xenobiotics, after daily exposure to commercial pentaBDE mixture at doses between 5 and 50 mg/kg BW in rats for 13 and 4 weeks, respectively. Hepatic enzymes such as AST, ALT, GGT and AP are commonly used as early markers of hepatic toxicity because they appear in blood in case of liver cell damage. According to Wolkers et al. (2009), chronic exposure to environmental contaminants including PBDEs in harbor seals had no effect on ALT, AST, AP and GGT levels whereas Schumacher et al. (1995) showed an increase of ALT and GGT activities and a decrease of AST activity induced by contaminants exposure in seals from the polluted Wadden Sea compared to seals from the more pristine Icelandic population. Thus, chronic administration for 90 days of PBDE-99 at 0.15, 1.5 and 15 μ g/kg does not appear to induce liver toxicity in rats.

PBDE concentrations in adipose tissue are 5 and 25 ng/g lipid weight in European and American women, respectively (Covaci et al., 2002; Schecter et al., 2005). In the present study, PBDE-99 levels in adipose tissue were between 18 and 1925 ng/g lipid weight, similar to PBDE-99 levels found in human population, particularly for the dose of 0.15 µg/kg BW. These results confirm on the one hand that the doses administered to animals in this present study are representative of human exposure, and on the other hand that BDE-99 levels in adipose tissue are proportional to increasing doses of PBDE-99 received during the period of exposure.

The present study suggest that a long-term exposure for 90 days to low doses of PBDE-99 during adulthood in this current study did not alter the spontaneous behavior of animals as measured in the open-field test. In the same way, Bellés et al. (2010) showed that exposure to a single dose of PBDE-99 at 0.6 mg/kg or 1.2 mg/kg BW in adult rats had no effect in this test 45 days after administration.

An interesting result we observed in this test was the increasing time of rearings and the reduced time spent in the central zone when compared the performances of the animals measured before and after the 90 days of exposure. However, this variation was only significant in rats treated with the higher dose of PBDE-99 (15 µg/kg), suggesting the ability of this pollutant to modify the emotional state over time. Moreover, the results we obtained in the elevated plus-maze test for anxiety and exploration did not confirm these ones, possibly due to differences in the anxiogenic context of the plus-maze compared to the open-field. Likewise, Johansson et al. (2008) did not show any effect of PBDEs on anxiety levels in mice. Nevertheless, there is need of additional studies of this substance on other tests of emotion, including depression and pain.

Adult exposure to PBDE-99 with a single dose of 0.6 mg/kg or 1.2 mg/kg in rats did not cause spatial memory and learning impairment in the Morris water maze test (Bellés et al., 2010). In our study using the water maze paradigm, rats did not exhibit spatial learning and memory disturbances. Indeed, animals of all groups showed the same ability to find the platform in this test.

One of the main mechanisms of neurotoxicity of PBDE-99 and other congeners would be the overproduction of reactive oxygen species (ROS) particularly in neocortex, hippocampus, and cerebellum, considered as important structures for integrating sensory and motor functions and implicated in learning and memory mechanisms (Bellés et al., 2010; Cheng et al., 2009; Giordano et al., 2008). According to Lin et al. (1995), oxidative stress resulted in extensive lesions in cortex, thalamus, hypothalamus, and striatum and may cause memory impairments (Gonenç et al., 2005). However, in the study of Bellés et al. (2010), exposure to PBDE-99 in adult rats induced oxidative stress in cerebellum and to a lesser

extent in cortex and hippocampus but without having caused locomotor activity or memory disturbances.

PBDEs are known to induce neurobehavioral toxicity in rodents, particularly in case of developmental exposure (Branchi et al., 2003; Cheng et al., 2009; Costa and Giordano, 2007; Eriksson et al., 2001). Indeed, spontaneous motor behavior disturbances were shown in rodents exposed to PBDEs during the developing period (Branchi et al., 2005; Eriksson et al., 2001; Kuriyama et al., 2005; Viberg et al., 2004, 2005). Moreover, young animals neonatally exposed to PBDEs exhibited spatial learning and memory impairments (Cheng et al., 2009; Eriksson et al., 2001; He et al., 2009; Wu et al., 2008). According to Piedrafita et al. (2008), Rice and Barone (2000) and Selevan et al. (2000), exposure to pollutants would produce more important alterations in cognitive functions during development than during adulthood. Indeed, there would exist a critical phase of neonatal development during which animals are more sensitive to pollutant exposure, presumed to be around PND-10 (Eriksson et al., 2002).

Our results seem to indicate, that contrary to acute exposure to PBDEs at high doses, chronic exposure to realistic doses of PBDE-99 does not appear to induce cognitive impairments in adult rats in our experimental conditions. One of the possible explanations of our results would be that the exposure duration of 90 days would be insufficient to induce neurobehavioral and physiological impairments in Sprague-Dawley rats in view of low doses used. The second potential explanation could be the less sensitivity of adult rats, compared to young rats, to effects of such pollutants. The fat content in adult rats is higher than those in young rats with a higher storage of lipophilic substances in adipose tissue. Thus, this could be considered as a detoxication mechanism of the organism because of the possibility for these compounds to be removed from sites of action and/or receptors (Geyer et al., 1993). Indeed, these authors demonstrated that the toxicity of TCDD (2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxine), a molecule belonging to dioxin and structurally similar to PBDEs, was inversely correlated with total body fat content of animals.

In conclusion, the results of the present investigation showed no changes in physiological measures or locomotor activity, anxiety and cognition after chronic exposure to environmental doses of PBDE-99 in adult Sprague-Dawley rats. These results are different from those found in the literature but the doses used in this study were 100 times lower and were more representative of human exposure. Moreover, most existing studies were conducted in young unlike our study exposure to PBDEs occurred in adulthood. Nevertheless, it would be of interest to examine the effects of chronic realistic doses of PBDE-99 on young animals seeming to be more sensitive to pollutants, on other behavioral tests, and on other types of neural function.

Conflict of interest

The authors declare that they have no competing financial interests.

Acknowledgements

The authors thank Sophie Hidalgo and Valerie Demade, preclinical research assistants, for their skilful technical assistance and Pr Bergman for the synthesis and the supply of PBDE-99.

This work was supported by the “Association Nationale de la Recherche et de la Technologie (ANRT)” through a research grant CIFRE n° 1044/2007 and by ETAP-Applied Ethology Research Center.

References

- Allen, B.C., Kavlock, R.J., Kimmel, C.A., Faustman, E.M., 1994. Dose-response assessment for developmental toxicity. II. Comparison of generic benchmark dose estimates with no observed adverse effect levels. *Fundam. Appl. Toxicol.* 23, 487-495.
- Bellés, M., Alonso, V., Linares, V., Albina, M.L., Sirvent, J.J., Domingo, J.L., Domènec, J.S., 2010. Behavioral effects and oxidative status in brain regions of adult rats exposed to PBDE-99. *Toxicol. Lett.* 194, 1-7.
- Birnbaum, L.S., Staskal, D.F., 2004. Brominated flame retardants: cause for concern? *Environ. Health Perspect.* 112, 9-17.
- Branchi, I., Alleva, E., Costa, L.G., 2002. Effects of perinatal exposure to a polybrominated diphenyl ether (PBDE 99) on mouse neurobehavioral development. *Neurotoxicology* 23, 375-384.
- Branchi, I., Capone, F., Alleva, E., Costa, L.G., 2003. Polybrominated diphenyl ethers: neurobehavioral effects following developmental exposure. *Neurotoxicology* 24, 449-462.
- Branchi, I., Capone, F., Vitalone, A., Madia, F., Santucci, D., Alleva, E., Costa, L.G., 2005. Early developmental exposure to BDE 99 or Aroclor 1254 affects neurobehavioral profile: interference from the administration route. *Neurotoxicology* 26, 183-192.
- Cheng, J., Gu, J., Ma, J., Chen, X., Zhang, M., Wang, W., 2009. Neurobehavioural effects, redox responses and tissue distribution in rat offspring developmental exposure to PBDE-99. *Chemosphere* 75, 963-968.
- Coburn, C.G., Currás-Collazo, M.C., Kodavanti, P.R., 2007. Polybrominated diphenyl ethers and ortho-substituted polychlorinated biphenyls as neuroendocrine disruptors of vasopressin release: effects during physiological activation in vitro and structure-activity relationships. *Toxicol. Sci.* 98, 178-186.
- Costa, L.G., Giordano, G., 2007. Developmental neurotoxicity of polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants. *Neurotoxicology* 28, 1047-1067.
- Covaci, A., de Boer, J., Ryan, J.J., Voorspoels, S., Schepens, P., 2002. Determination of polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls in human adipose tissue by large-volume injection-narrow-bore capillary gas chromatography/electron impact low-resolution mass spectrometry. *Anal. Chem.* 74, 790-798.
- Darnerud, P.O., Eriksen, G.S., Jóhannesson, T., Larsen, P.B., Viluksela, M., 2001. Polybrominated diphenyl ethers: occurrence, dietary exposure, and toxicology. *Environ. Health Perspect.* 109, 49-68.
- de Wit, C.A., 2002. An overview of brominated flame retardants in the environment. *Chemosphere* 46, 583-624.
- Domingo, J.L., 2004. Human exposure to polybrominated diphenyl ethers through the diet. *J. Chromatogr. A.* 1054, 321-326.
- Dunnick, J.K., Nyska, A., 2009. Characterization of liver toxicity in F344/N rats and B6C3F1 mice after exposure to a flame retardant containing lower molecular weight polybrominated diphenyl ethers. *Exp. Toxicol. Pathol.* 61, 1-12.

- Eriksson, P., Jakobsson, E., Fredriksson, A., 2001. Brominated flame retardants: a novel class of developmental neurotoxicants in our environment? *Environ. Health Perspect.* 109, 903-908.
- Eriksson, P., Viberg, H., Jakobsson, E., Orn, U., Fredriksson, A., 2002. A brominated flame retardant, 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether: uptake, retention, and induction of neurobehavioral alterations in mice during a critical phase of neonatal brain development. *Toxicol. Sci.* 67, 98-103.
- Geyer, H.J., Scheunert, I., Rapp, K., Gebefügi, I., Steinberg, C., Kettrup, A., 1993. The relevance of fat content in toxicity of lipophilic chemicals to terrestrial animals with special reference to dieldrin and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Ecotoxicol. Environ. Safe.* 26, 45-60.
- Giordano, G., Kavanagh, T.J., Costa, L.G., 2008. Neurotoxicity of a polybrominated diphenyl ether mixture (DE-71) in mouse neurons and astrocytes is modulated by intracellular glutathione levels. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 232, 161-168.
- Gönenç, S., Uysal, N., Açıkgöz, O., Kayatekin, B.M., Sönmez, A., Kiray, M., Aksu, I., Güleçer, B., Topçu, A., Semin, I., 2005. Effects of melatonin on oxidative stress and spatial memory impairment induced by acute ethanol treatment in rats. *Physiol. Res.* 54, 341-348.
- He, P., Wang, A.G., Xia, T., Gao, P., Niu, Q., Guo, L.J., Chen, X.M., 2009. Mechanisms underlying the developmental neurotoxic effect of PBDE-47 and the enhanced toxicity associated with its combination with PCB153 in rats. *Neurotoxicology* 30, 1088-1095.
- Hites, R.A., 2004. Polybrominated diphenyl ethers in the environment and in people: a meta-analysis of concentrations. *Environ. Sci. Technol.* 38, 945-956.
- Inoue, K., Harada, K., Takenaka, K., Uehara, S., Kono, M., Shimizu, T., Takasuga, T., Senthikumar, K., Yamashita, F., Koizumi, A., 2006. Levels and concentration ratios of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in serum and breast milk in Japanese mothers. *Environ. Health Perspect.* 114, 1179-1185.
- IPCS, 1994. International Program on Chemical Safety. Brominated Diphenyl Ethers. *Environmental Health Criteria*, vol. 162. World Health Organisation, Geneva.
- Johansson, N., Viberg, H., Fredriksson, A., Eriksson, P., 2008. Neonatal exposure to decabrominated diphenyl ether (PBDE 209) causes dose-response changes in spontaneous behaviour and cholinergic susceptibility in adult mice. *Neurotoxicology* 29, 911-919.
- Jones-Otazo, H.A., Clarke, J.P., Diamond, M.L., Archbold, J.A., Ferguson, G., Harner, T., Richardson, G.M., Ryan, J.J., Wilford, B., 2005. Is house dust the missing exposure pathway for PBDEs? An analysis of the urban fate and human exposure to PBDEs. *Environ. Sci. Technol.* 39, 5121-5130.
- Kodavanti, P.R., Ward, T.R., 2005. Differential effects of commercial polybrominated diphenyl ether and polychlorinated biphenyl mixtures on intracellular signaling in rat brain in vitro. *Toxicol. Sci.* 85, 952-962.
- Kuriyama, S.N., Talsness, C.E., Grote, K., Chahoud, I., 2005. Developmental exposure to low dose PBDE 99: effects on male fertility and neurobehavior in rat offspring. *Environ. Health Perspect.* 113, 149-154.

- Lin, M.T., Kao, T.Y., Jin, Y.T., Chen, C.F., 1995. Interleukin-1 receptor antagonist attenuates the heat stroke-induced neuronal damage by reducing the cerebral ischemia in rats. *Brain. Res. Bull.* 37, 595-598.
- Marsh, G., Hu, J., Jakobsson, E., Rahm, S., Bergman, A., 1999. Synthesis and characterization of 32 polybrominated Diphenyl Ethers. *Environ. Sci. Technol.* 33, 3033-3037.
- Meironyté, D., Norén, K., Bergman, A., 1999. Analysis of polybrominated diphenyl ethers in Swedish human milk. A time-related trend study, 1972-1997. *J. Toxicol. Environ. Health A* 58, 329-341.
- Morris, R., 1984. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J. Neurosci. Meth.* 11, 47-60.
- Norén, K., Meironyté, D., 2000. Certain organochlorine and organobromine contaminants in Swedish human milk in perspective of past 20-30 years. *Chemosphere* 40, 1111-1123.
- OECD, 1998. Organisation of Economic Co-operation and Development. Section 4 (Part 408), Health Effects: Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents, Guideline for the Testing of Chemicals. Paris.
- Örn, U., Eriksson, L., Jakobsson, E., Bergman, Å., 1996. Synthesis and characterization of polybrominated diphenyl ethers - unlabelled and radiolabelled tetra-, penta- and hexa-bromodiphenyl ethers. *Acta. Chem. Scand.* 50, 802-807.
- Ounnas, F., Feidt, C., Toussaint, H., Marchand, P., Bizec, B.L., Rychen, G., Jurjanz, S., 2010. Polychlorinated biphenyl and low polybrominated diphenyl ether transfer to milk in lactating goats chronically exposed to contaminated soil. *Environ. Sci. Technol.* 44, 2682-2688.
- Piedrafita, B., Erceg, S., Cauli, O., Felipo, V., 2008. Developmental exposure to polychlorinated biphenyls or methylmercury, but not to its combination, impairs the glutamate-nitric oxide-cyclic GMP pathway and learning in 3-month-old rats. *Neuroscience* 154, 1408-1416.
- Rayne, S., Ikonomou, M.G., Antcliffe, B., 2003. Rapidly increasing polybrominated diphenyl ether concentrations in the Columbia River system from 1992 to 2000. *Environ. Sci. Technol.* 37, 2847-2854.
- Rice, D., Barone Jr., S., 2000. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. *Environ. Health Perspect.* 108, 511-533.
- Schechter, A., Pavuk, M., Päpke, O., Ryan, J.J., Birnbaum, L., Rosen, R., 2003. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in U.S. mothers' milk. *Environ. Health Perspect.* 111, 1723-1729.
- Schechter, A., Päpke, O., Tung, K.C., Joseph, J., Harris, T.R., Dahlgren, J., 2005. Polybrominated diphenyl ether flame retardants in the U.S. population: current levels, temporal trends, and comparison with dioxins, dibenzofurans, and polychlorinated biphenyls. *J. Occup. Environ. Med.* 47, 199-211.

- Schechter, A., Päpke, O., Harris, T.R., Tung, K.C., Musumba, A., Olson, J., Birnbaum, L., 2006. Polybrominated diphenyl ether (PBDE) levels in an expanded market basket survey of U.S. food and estimated PBDE dietary intake by age and sex. *Environ. Health Perspect.* 114, 1515-1520.
- Schumacher, U., Heidemann, G., Skirnisson, K., Schumacher, W., Pickering, R.M., 1995. Impact of captivity and contaminant level on blood parameters of harbour seals (*Phoca vitulina*). *Comp. Biochem. Physiol.* 112A, 455-462.
- Schuhmacher, M., Kiviranta, H., Ruokojärvi, P., Nadal, M., Domingo, J.L., 2009. Concentrations of PCDD/Fs, PCBs and PBDEs in breast milk of women from Catalonia, Spain: a follow-up study. *Environ. Int.* 35, 607-613.
- Selevan, S.G., Kimmel, C.A., Mendola, P., 2000. Identifying critical windows of exposure for children's health. *Environ. Health Perspect.* 108, 451-455.
- Siegel, S., Castellan Jr., N.J., 1998. *Nonparametrics Statistics for the Behavioral Sciences*, 2nd ed. New York: McGraw-Hill.
- Sjödin, A., Wong, L.Y., Jones, R.S., Park, A., Zhang, Y., Hodge, C., Dipietro, E., McClure, C., Turner, W., Needham, L.L., Patterson Jr., D.G., 2008. Serum concentrations of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polybrominated biphenyl (PBB) in the United States population: 2003-2004. *Environ. Sci. Technol.* 42, 1377-1384.
- USEPA, 2002. U.S. Environmental Protection Agency. *Child-Specific Exposure Factors Handbook*, EPA-600-P-00-002B. National Center for Environmental Assessment: Washington DC.
- van der Ven, L.T., van de Kuil, T., Verhoef, A., Leonards, P.E., Slob, W., Cantón, R.F., Germer, S., Hamers, T., Visser, T.J., Litens, S., Håkansson, H., Fery, Y., Schrenk, D., van den Berg, M., Piersma, A.H., Vos, J.G., 2008. A 28-day oral dose toxicity study enhanced to detect endocrine effects of a purified technical pentabromodiphenyl ether (pentaBDE) mixture in Wistar rats. *Toxicology* 245, 109-122.
- Viberg, H., Fredriksson, A., Eriksson, P., 2004. Neonatal exposure to the brominated flame-retardant, 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether, decrease cholinergic nicotinic receptors in hippocampus and affects spontaneous behavior in the adult mouse. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 17, 61-65.
- Viberg, H., Fredriksson, A., Eriksson, P., 2005. Deranged spontaneous behavior and decrease in cholinergic muscarinic receptors in hippocampus in the adult rat, after neonatal exposure to the brominated flame-retardant, 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether (PBDE 99). *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 20, 283-288.
- Wilford, B.H., Shoeib, M., Harner, T., Zhu, J., Jones, K.C., 2005. Polybrominated diphenyl ethers in indoor dust in Ottawa, Canada: implications for sources and exposure. *Environ. Sci. Technol.* 39, 7027-7035.
- Wolkers, H., Boily, F., Fink-Gremmels, J., van Bavel, B., Hammill, M.O., Primicerio, R., 2009. Tissue-specific contaminant accumulation and associated effects on hepatic serum analytes and cytochrome P450 enzyme activities in hooded seals (*Cystophora cristata*) from the Gulf of St. Lawrence. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 56, 360-370.

Wu, Y., Yu, Y.H., Chen, D.J., Jiang, H.P., 2008. Effect of maternal BDE-209 exposure on the learning and memory ability of offspring rats and the dose-effect relation. *Nan. Fang. Yi. Ke. Da. Xue. Xue. Bao.* 28, 976-978.

Table 1

Effects of a 90-day exposure to PBDE-99 on body weight.

		PBDE-99 dose ($\mu\text{g/kg/day}$)			
		0	0.15	1.5	15
BW (g)	D0	306.4 $\pm$ 5.5	306.4 $\pm$ 5.7	304.4 $\pm$ 3.5	300.7 $\pm$ 2.8
	D90	476.8 $\pm$ 12.4	487.4 $\pm$ 13.5	472.6 $\pm$ 6.4	470.6 $\pm$ 8.9
MBWC (g) (D0 - D90)		170.4 $\pm$ 8.2	181.0 $\pm$ 9.7	168.2 $\pm$ 5.4	169.9 $\pm$ 7.9

Abbreviations: BW, body weight. MBWC, mean body weight change. Data are expressed as mean $\pm$ SEM (n = 8 for control group and n = 7 for each PBDE-99-treated group).

Table 2

Effects of a 90-day exposure to PBDE-99 on anxiety of rats in the elevated plus-maze test.

		PBDE-99 dose ($\mu\text{g/kg/day}$)			
		0	0.15	1.5	15
Number of entries in the open arms	Before	3.0 $\pm$ 0.5	3.3 $\pm$ 0.9	1.9 $\pm$ 0.6	3.0 $\pm$ 0.8
	After	2.8 $\pm$ 0.8	3.9 $\pm$ 0.8	3.0 $\pm$ 0.8	2.4 $\pm$ 0.4
Number of entries in the closed arms	Before	16.8 $\pm$ 1.4	14.6 $\pm$ 2.4	13.4 $\pm$ 1.2	14.4 $\pm$ 1.6
	After	14.3 $\pm$ 0.6	13.1 $\pm$ 0.5	14.7 $\pm$ 0.7	14.0 $\pm$ 0.4
total arm entries	Before	19.8 $\pm$ 1.8	17.9 $\pm$ 3.2	15.3 $\pm$ 1.6	17.4 $\pm$ 2.0
	After	17.0 $\pm$ 1.3	17.0 $\pm$ 1.1	17.7 $\pm$ 0.8	16.4 $\pm$ 0.6
Time spent (s) in the open arms	Before	15.6 $\pm$ 3.1	14.0 $\pm$ 5.0	9.1 $\pm$ 3.1	22.4 $\pm$ 7.8
	After	14.1 $\pm$ 4.0	24.7 $\pm$ 6.1	16.3 $\pm$ 6.2	11.4 $\pm$ 3.2
Time spent (s) in the closed arms	Before	237.3 $\pm$ 7.0	243.6 $\pm$ 9.7	247.5 $\pm$ 3.7	230.0 $\pm$ 10.4
	After	221.0 $\pm$ 11.9	217.0 $\pm$ 7.8	211.7 $\pm$ 10.1	223.6 $\pm$ 5.9

The term "Before" refers to results measured before the beginning of the exposure. The term "After" indicates the results obtained after the 90-day period of treatment. Data are expressed as mean $\pm$ SEM (n = 8 for control group and n = 7 for each PBDE-99-treated group).

Table 3

Effects of a 90-day exposure to PBDE-99 on locomotor activity of rats in the open-field test.

		PBDE-99 dose ($\mu\text{g/kg/day}$)			
		0	0.15	1.5	15
Number of squares crossed	Before	92.0 $\pm$ 3.9	76.6 $\pm$ 4.3	79.3 $\pm$ 4.3	80.0 $\pm$ 5.1
	After	43.8 $\pm$ 4.4**	45.7 $\pm$ 2.6*	51.1 $\pm$ 4.4*	55.7 $\pm$ 6.4T
Number of rearings	Before	18.0 $\pm$ 1.6	15.4 $\pm$ 1.5	17.9 $\pm$ 1.3	19.1 $\pm$ 1.9
	After	15.5 $\pm$ 1.9	16.6 $\pm$ 0.5	16.9 $\pm$ 1.9	20.7 $\pm$ 1.8
Time of rearings (s)	Before	31.0 $\pm$ 4.6	23.8 $\pm$ 3.6	28.9 $\pm$ 1.6	29.8 $\pm$ 3.4
	After	29.6 $\pm$ 5.4	28.7 $\pm$ 1.8	38.3 $\pm$ 5.7	43.0 $\pm$ 4.7*
Time spent in the central zone (s)	Before	7.8 $\pm$ 1.2	6.5 $\pm$ 0.9	4.5 $\pm$ 1.0	11.0 $\pm$ 3.7
	After	7.6 $\pm$ 1.7	7.7 $\pm$ 3.4	3.6 $\pm$ 0.8	3.9 $\pm$ 1.3*

The term “Before” refers to results measured before the beginning of the exposure. The term “After” indicates the results obtained after the 90-day period of treatment. Data are expressed as mean $\pm$ SEM (n = 8 for control group and n = 7 for each PBDE-99-treated group).

Wilcoxon Test: ^T P < 0.10 ; * P < 0.05; ** P $\leq$ 0.01, statistical difference compared to the results measured before starting the exposure (Wilcoxon test).

Table 4

Effects of a 90-day exposure to PBDE-99 on water maze performances of rats.

		PBDE-99 dose ($\mu\text{g/kg/day}$)			
		0	0.15	1.5	15
Escape latency (s) during the first trial on day 1	Before	40.0 $\pm$ 8.5	49.6 $\pm$ 7.3	45.4 $\pm$ 7.0	42.1 $\pm$ 8.5
	After	19.1 $\pm$ 8.4	25.3 $\pm$ 10.0	16.4 $\pm$ 3.4	21.4 $\pm$ 6.7
Escape latency (s) during the third trial on day 1	Before	15.6 $\pm$ 5.3	19.6 $\pm$ 6.2	21.3 $\pm$ 7.2	29.4 $\pm$ 6.1
	After	8.3 $\pm$ 1.8	10.6 $\pm$ 3.1	10.7 $\pm$ 4.7	6.6 $\pm$ 0.8
Mean time (s) to find the PF (over 4 trials on day 1)	Before	23.1 $\pm$ 2.8	28.2 $\pm$ 4.6	25.6 $\pm$ 4.4	26.4 $\pm$ 1.2
	After	9.2 $\pm$ 2.2*	12.4 $\pm$ 2.7**	10.5 $\pm$ 1.0 ^l	10.3 $\pm$ 1.8*
Escape latency (s) during the retest	Before	12.3 $\pm$ 6.8	9.9 $\pm$ 2.7	10.6 $\pm$ 4.3	8.8 $\pm$ 2.0
	After	9.9 $\pm$ 3.3	9.9 $\pm$ 3.8	4.6 $\pm$ 0.8	4.7 $\pm$ 0.9
Latency (s) to find the former site of the PF (probe test)	After	17.9 $\pm$ 6.9	13.3 $\pm$ 3.4	20.0 $\pm$ 8.2	11.9 $\pm$ 8.0
Number of crossings of the former site of the PF	After	3.1 $\pm$ 0.6	3.6 $\pm$ 0.5	2.3 $\pm$ 0.7	3.4 $\pm$ 0.7
Number of entries in the PF quadrant	After	6.0 $\pm$ 0.6	6.4 $\pm$ 0.3	5.3 $\pm$ 0.5	5.0 $\pm$ 0.2
Time spent (s) in the PF quadrant	After	17.6 $\pm$ 1.7	18.4 $\pm$ 1.4	15.7 $\pm$ 1.3	18.1 $\pm$ 1.2

The term “Before” refers to results measured before the beginning of the exposure. The term “After” indicates the results obtained after the 90-day period of treatment. Data are expressed as mean $\pm$ SEM (n = 8 for control group and n = 7 for each PBDE-99-treated group).

Wilcoxon Test: ^T P < 0.10; * P < 0.05; ** P < 0.01, statistical difference compared to the results measured before starting the exposure (Wilcoxon test).

Table 5

Effects of a 90-day exposure to PBDE-99 on hepatic enzyme levels.

	PBDE-99 dose ($\mu\text{g/kg/day}$)			
	0	0.15	1.5	15
AST (UI/L)	110.1 $\pm$ 4.8	107.6 $\pm$ 5.7	103.6 $\pm$ 5.0	117.4 $\pm$ 6.3
ALT (UI/L)	50.8 $\pm$ 2.8	51.3 $\pm$ 1.6	56.0 $\pm$ 2.8	52.7 $\pm$ 2.1
GGT (UI/L)	4.0 $\pm$ 3.5	0.9 $\pm$ 0.9	3.6 $\pm$ 2.6	8.0 $\pm$ 3.9
AP (UI/L)	346.5 $\pm$ 24.4	343.4 $\pm$ 17.9	364.9 $\pm$ 15.0	339.9 $\pm$ 17.9

Data are expressed as mean $\pm$ SEM (n = 8 for control group and n = 7 for each PBDE-99-treated group).

Table 6

Effects of a 90-day exposure to PBDE-99 on PBDE-99 concentration in adipose tissue.

	PBDE-99 dose ($\mu\text{g/kg/day}$)			
	0	0.15	1.5	15
[PBDE-99] in adipose tissue (ng/g lipid weight)	0.58	18.40	190.78	1925.67

Data are expressed as mean $\pm$ SEM (pooled data : n = 1).

AUTORISATION DE SOUTENANCE DE THESE
DU DOCTORAT DE L'INSTITUT NATIONAL
POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

o0o

VU LES RAPPORTS ETABLIS PAR :

Monsieur Daniel ZALKO, Chargé de Recherche, INRA Toulouse

Madame Florianne TSCHUDI-MONNET, Maître de recherche, Université de Lausanne

Le Président de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, autorise :

Madame DAUBIÉ Stéphanie

à soutenir devant un jury de l'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE,
une thèse intitulée :

**"Toxicité neurocomportementale à court et à long-terme du BDE-99 chez le rat adulte
ou en développement. Etude des effets de l'administration quotidienne par voie orale de
doses représentatives de l'exposition humaine pendant 90 jours. "**

en vue de l'obtention du titre de :

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

Spécialité : « **Sciences Agronomiques** »

Fait à Vandoeuvre, le 15 juin 2011

Le Président de l'IN.P.L.,

F. LAURENT



Toxicité neurocomportementale à court et à long-terme du BDE-99 chez le rat adulte ou en développement. Etude des effets de l'administration quotidienne par voie orale de doses représentatives de l'exposition humaine pendant 90 jours.

Les PBDEs appartiennent à la famille des retardateurs de flamme bromés, substances massivement utilisés ces dernières décennies. Ces molécules sont aujourd'hui retrouvées de façon ubiquitaire dans l'environnement extérieur et intérieur. L'Homme est exposé à ces polluants par le biais de l'alimentation et de l'ingestion/inhalation de poussières ménagères ou industrielles contaminées. Leurs propriétés lipophiles et leur persistance sont à l'origine de leur bioaccumulation dans les matrices abiotiques et biologiques (lait, sérum...). Les travaux de recherche de cette thèse ont eu pour objectif d'évaluer l'impact d'une exposition à un polluant environnemental toxique et très répandu, le BDE-99, administré dans des conditions reflétant l'exposition humaine. Ainsi, les effets d'une administration de longue durée à des doses réalistes de BDE-99 (0,15, 1,5 et 15 µg/kg/j) ont été évalués au plan neurocomportemental et physiologique chez le rat mâle de souche Sprague-Dawley. Aucune altération de l'activité, de l'anxiété et des fonctions cognitives n'a été mise en évidence que les animaux aient été traités à l'âge adulte, à partir du sevrage ou à partir du 8^{ème} jour de vie postnatale. Les seules variations comportementales significatives observées ont été des troubles transitoires de la coordination locomotrice ainsi qu'un retard d'une journée de l'ouverture des yeux chez les animaux traités avec le BDE-99 depuis l'âge de 8 jours. Au plan physiologique, aucune variation significative de l'évolution pondérale, des prises hydrique et alimentaire ainsi que du poids de plusieurs organes (foie, cerveau, reins, rate et thymus) n'a été observée quelle que soit la dose de BDE-99 administrée et la période d'exposition considérée. Ces résultats montrent donc que ce polluant administré chez le rat à des doses réalistes, reflétant celles auxquelles l'Homme est réellement exposé, n'est pas à même d'induire une toxicité neurocomportementale que les animaux aient contaminés à l'âge adulte ou bien lors de différentes phases du développement postnatal. Le fait d'avoir utilisé des doses correspondantes au niveau d'exposition environnemental est sans aucun doute à la base des discordances observées entre les résultats de ce travail et ceux des études publiées par ailleurs, soulignant ainsi la nécessité de réaliser des modèles d'exposition les plus pertinents possibles de la réalité humaine pour pouvoir conclure au mieux quant au risque lié à cette famille de contaminants pour la santé humaine.

Mots clefs : BDE-99, doses réalistes, activité, fonctions cognitives, coordination locomotrice, poids corporel, poids des organes, rat.

Short and long-term neurobehavioral toxicity of BDE-99 in adult or in developing rats. Effects of daily administration of oral doses representative of human exposure for 90 days.

PBDEs belong to flame retardants, substances heavily used in recent decades. These molecules are now found ubiquitously in the environment outside and inside. Humans are exposed to these pollutants through diet and ingestion/inhalation of household dust or contaminated industrial dust. Their lipophilic properties and their persistence are the cause of their bioaccumulation in abiotic and biological matrices (milk, serum ...). The research works of this thesis was aimed to assess the impact of exposure to a toxic environmental pollutant and very prevalent, BDE-99, administered in conditions reflecting the human exposure. Thus, the effects of long-term exposure to realistic doses of BDE-99 (0.15, 1.5 and 15 µg/kg/day) were evaluated in terms neurobehavioral and physiological in male Sprague-Dawley rats. No alteration of the activity, anxiety and cognitive function has been highlighted that the animals were treated in adulthood, from weaning or from the 8th day of postnatal life. The only significant behavioral variations observed were transient locomotor coordination disorders and a delay of one day of eye opening in animals treated with BDE-99 from the age of 8 days. On a physiological level, no significant variation in body weight change, food and water consumption and weight of several organs (liver, brain, kidneys, spleen and thymus) was observed whatever the dose of BDE-99 administered and the exposure period considered. These results show that this pollutant administered to rats at realistic doses, reflecting those to which humans are actually exposed, is not able to induce neurobehavioral toxicity that the animal are contaminated in adulthood or at different phases of postnatal development. The fact to have used corresponding the level of environmental exposure is undoubtedly the basis of discrepancies observed between the results of this work and those of the published studies elsewhere, underscoring the necessity to realize exposure models the most possible relevant in order to able to conclude at best about risk associated with this family of contaminants to human health.

Keywords: BDE-99, realistic doses, activity, cognitive functions, locomotor coordination, body weight, organs weight, rats.