

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Connaissances relatives aux données de toxicité sur les composés de la famille des polybromés

Tome 3

Note d'accompagnement
Rapport d'étude

Août 2017

Édition scientifique

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaître, évaluer, protéger

Connaissances relatives aux données de toxicité sur les composés de la famille des polybromés

Tome 3

Note d'accompagnement
Rapport d'étude

Août 2017

Édition scientifique



Le directeur général

Maisons-Alfort, le 2 août 2017

Note

relative à l'état des connaissances sur les usages, les sources d'exposition et la toxicité de plusieurs substances de la famille des polybromés

Présentation de la question posée et organisation de l'expertise

L'Agence a été saisie en juin 2009 par la Direction générale de la santé (DGS) (saisine 2009-SA-0331) afin d'évaluer les risques sanitaires (ERS) liés à l'exposition à des substances reprotoxiques de catégorie 2 et/ou perturbatrices endocriniennes (PE) présentes dans des produits de consommation mis sur le marché en France. Cette demande d'expertise visait la population générale, incluant les populations vulnérables, et les personnes en milieu de travail manipulant des produits de consommation dits «grand public» du fait de leur activité professionnelle, hors fabrication, transformation, distribution et élimination. Parmi l'ensemble des substances soumises à l'expertise figuraient deux substances de la famille des polybromés :

- BDE 47 (2, 2', 4, 4'-tétraBDE), (n°CAS 5436-43-1)
- BDE 209 (2, 2', 3, 3', 4, 4', 5, 5', 6, 6'-décaBDE), (n°CAS 1163-19-1)

D'autres polybromés peuvent cependant être présents dans des articles ou produits de consommation ou dans différents compartiments de l'environnement.

L'Anses a donc considéré, en accord avec ses instances d'expertise (Groupe de travail sur les perturbateurs endocriniens (GT-PE), Comité d'experts spécialisé (CES) «Evaluation des risques des substances chimiques» et CES «Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence»), qu'il convenait de recenser les données disponibles sur une liste élargie de composés chimiques appartenant à la famille des polybromés (cf.infra) pour documenter les réglementations qui encadrent l'utilisation de ces substances, les usages, les expositions et les dangers. L'agence a également considéré que les sources d'exposition potentielle à ces substances devaient inclure l'alimentation, l'eau, l'air, et les poussières.

La présente note résume succinctement les principaux éléments d'information résultant de la compilation des données disponibles concernant les réglementations et usages des substances d'intérêt, les niveaux de contamination de différents produits commercialisés et compartiments de l'environnement, et les dangers potentiels liés aux polybromés. L'ensemble de ces données est présenté dans les trois tomes du rapport :

Tome 1 : Connaissances relatives à la réglementation, à l'identification, aux propriétés chimiques, à la production et aux usages des substances de la famille des polybromés et particulièrement du 2,2',4,4'-tétrabromodiphényl éther (tétraBDE) (n° CAS : 5436-43-1) et du décabromodiphényléther (décaBDE) (n°1163-19-5).

Tome 2 : Connaissances relatives aux données de contamination et aux expositions par des composés de la famille des polybromés.

Tome 3 : Connaissances relatives aux données de toxicité sur les composés de la famille des polybromés.

L'expertise s'est donnée pour objectif principal *in fine* de caractériser les principaux effets toxiques en lien avec une exposition à ces composés et de déterminer les sources majeures d'exposition humaine. Les données portant sur la toxicité, ou l'exposition n'ont pas fait l'objet d'une évaluation scientifique de leur robustesse. Ce travail a néanmoins permis d'identifier des substances pour lesquelles une évaluation des risques sanitaires pourrait se justifier du fait de leurs usages étendus et/ou de leur persistance dans l'organisme humain ou dans l'environnement, et du fait de leur toxicité potentielle pour l'être humain, notamment vis-à-vis du développement et des fonctions de la reproduction.

1 Modalités de traitement

1.1 Moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a soumis ce rapport pour commentaires au GT-PE ainsi qu'au CES «Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence» (CES Substances) en charge de l'instruction de la saisine de la DGS sur les perturbateurs endocriniens (n° saisine 2009-SA-0331). Ce rapport a ainsi été discuté lors des réunions du GT-PE et de la réunion du CES «Substances». La version actuelle de ce rapport en trois tomes tient compte des observations et éléments d'information complémentaires transmis par les membres des GT et CES consultés.

La présente note a été rédigée sur la base des rapports de synthèse sus-mentionnés, dont les sources d'information incluent :

- divers documents, enquêtes et rapports disponibles en interne produits préalablement par l'Anses ;
- des publications d'autres organismes d'expertise en France et à l'étranger ;
- d'un mémoire produit par Marylise Lagalle (interne de Pharmacie à l'Anses en 2016).

Substances soumises à l'expertise :

-Le BDE 47 et le BDE 209 (cf. supra)

Au final, ont été considérés les congénères pour lesquels des données de contamination dans les milieux entrant dans le champ de compétences de l'Agence (air, eau, alimentation et poussières) sont disponibles:

- les polybromodiphényléthers (PBDE), particulièrement les BDE 28, 47, 99, 100, 153, 154, 183 et 209,
- le tétrabromobisphénol A (TBBPA),
- l'hexabromocyclododécane (HBCDD).

Les données disponibles dans les différents milieux illustrés ci-dessous (Figure 1) sont décrites dans le tome 2 :

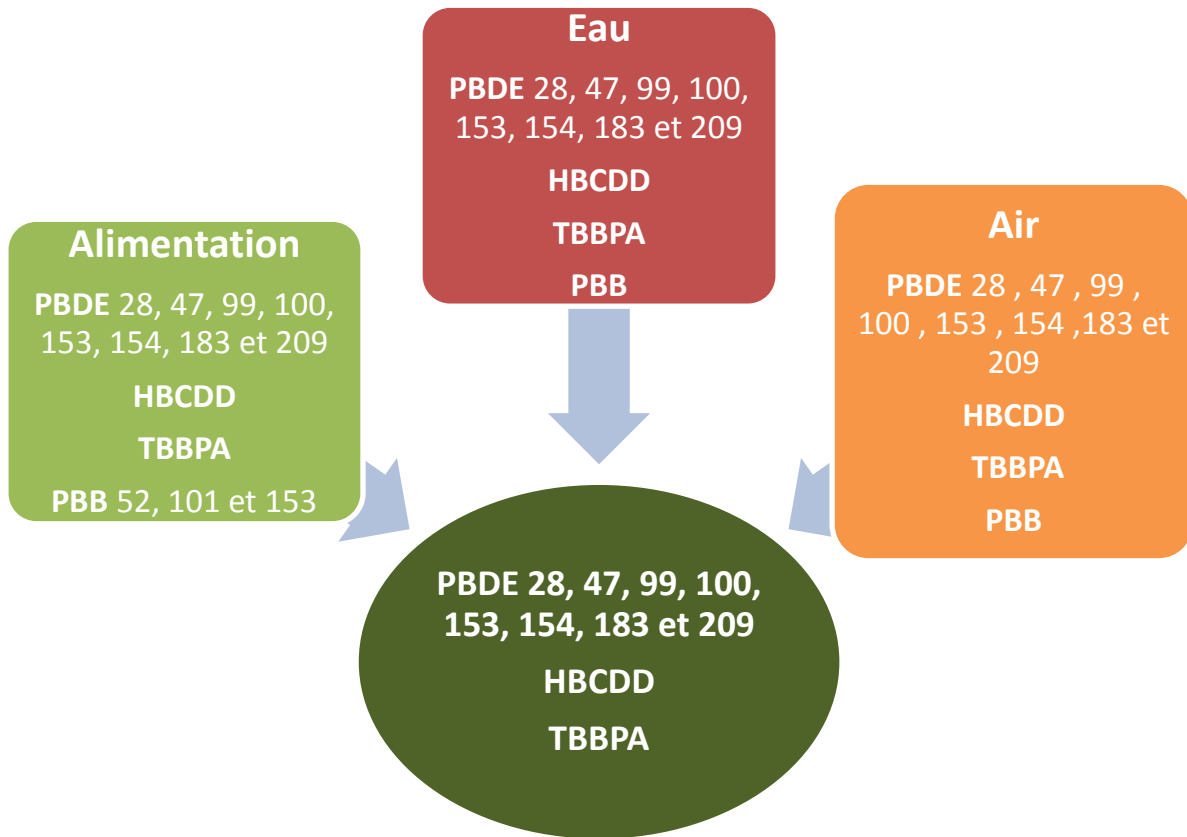


Figure 1 : Priorisation des substances et regroupement des données issus des différents milieux considérés

2 Résultats de l'expertise

2.1 Nomenclature et usage des composés polybromés

Les PBDE forment une famille de 209 congénères présentant la structure chimique suivante :

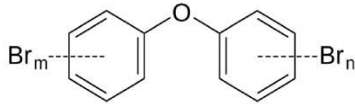


Fig. 2 : Structure générale des PBDE (m et n représentent le degré de bromation)

Les PBDE sont utilisés à la fois comme ignifuges additifs et réactifs dans la fabrication d'une grande variété de polymères tels que la mousse polystyrène, le polystyrène compact, la résine époxy, etc. Ils sont synthétisés sous la forme de mélanges commerciaux appelés pentabromodiphényléther (penta-mix), octabromodiphényléther (octa-mix) et décabromodiphényléther (déca-mix) dont la dénomination se réfère au type de congénère le plus représenté dans ces mélanges respectifs. Les mélanges penta et octa sont désormais interdits depuis 2003. Il est à noter que dans certaines études, les mélanges « penta-mix » sont nommés « penta-BDE ». Le penta-mix est également appelé mélange DE-71.

Le HBCDD peut contenir entre 70 et 95% de gamma-HBCDD et entre 3 et 30% d'alpha-HBCDD et bêta-HBCDD. De type additif, cet ignifugeant est principalement présent dans les mousses en polystyrène expansé ou extrudé utilisées pour la fabrication de panneaux isolants dans le domaine de la construction.

Le TBBPA, synthétisé à partir du bisphénol A, est un retardateur de flamme utilisé comme réactif ou additif dans la préparation des résines époxydes, résines ABS et phénoliques.

2.2 Teneurs en polybromés dans l'air et les poussières

Les résultats des études recensées dans le tome 2 montrent que :

- Parmi les BDE, les BDE 47, 99, 100, 153, 154 et 209 sont les composés faisant l'objet du plus grand nombre de publications.
- Un nombre croissant d'études s'intéresse à la présence de « nouveaux » retardateurs de flammes utilisés comme substituts aux BDE dans les environnements intérieurs et extérieurs. La majorité des études disponibles concerne le HBCDD et le TBBPA.
- La majorité des études concerne la présence de retardateurs de flammes dans les poussières déposées. Peu de données relatives à la contamination de l'air extérieur ont été identifiées dans la littérature.
- Les données de contamination de l'air intérieur et des poussières se rapportent principalement aux logements. Quelques études présentant des données de contamination, notamment dans les écoles, les crèches et les bureaux ont été identifiées.

- En France, des données quantifiées dans l'air et/ou les poussières déposées dans les logements sont disponibles pour les composés suivants : BDE 28, 47, 99, 100, 153, 154, 209 (Ecos-Habitat). Des données quantifiées dans les poussières déposées dans les logements mesurées sont également disponibles pour les composés suivants : BDE 28, 49, 66, 71, 75, 77, 85, 119, 138, 183, 190 et pour le HBCDD (campagne de Greenpeace).

2.3 Teneurs en polybromés dans les aliments

L'exposition alimentaire aux bromés a été évaluée pour les populations suivantes :

- la population générale en France métropolitaine *via* l'Etude alimentation totale¹ (EAT2 2006-2010),
- les femmes enceintes de l'enquête Etude des déterminants pré- et post natals du développement de la santé de l'enfant (EDEN) lancée en 2003,
- les enfants non allaités de 0 à 3 ans en France métropolitaine *via* l'Etude alimentation totale infantile (2016).

Les données de contaminations alimentaires par des composés polybromés dans les études EAT2 et EATi portent sur les substances suivantes :

- Polybromobiphényl éthers (PBDE) : BDE28, 47, 99, 100, 153, 154, 183, 209 ;
- Hexabromocyclododécane (HBCDD) : les trois congénères α , β et γ ;
- Polybromobiphényles : PBB52, 101, 153 ;
- Tétrabromobisphénol A (uniquement dans l'EATi).

2.4 Concentration dans les aliments

L'estimation des concentrations de ces substances dans les aliments dans la population générale en France métropolitaine est la suivante : la part des données censurées (congénères non détectés) pour les retardateurs de flamme bromés est très variable : de 7,1% pour le BDE-99 à 96,9% pour le BB-101. Les PBB (PBB-52, 101 et 153), certainement du fait de leur interdiction, sont globalement moins souvent détectés que les PBDE (BDE-28, 47, 99, 100, 153, 154, 183, 209).

Les plus fortes teneurs moyennes pour la somme des trois congénères de l'HBCD (alpha, bêta, et gamma) sont retrouvées dans les poissons, les charcuteries, les crustacés et mollusques et les viandes.

Pour la somme des trois congénères du PBB, les plus fortes teneurs sont retrouvées dans les huiles et margarines. Compte tenu des pourcentages élevés de congénères non détectés, les estimations sous l'hypothèse basse (LB) sont nulles pour un certain nombre de groupes d'aliments.

¹ EAT : Les « Etudes de l'Alimentation Totale » (EAT) sont des enquêtes nationales transversales conçues dans le but d'estimer l'exposition par ingestion à des composés chimiques. Elles incluent en particulier des analyses d'un grand nombre de substances portant sur des échantillons alimentaires représentatifs du régime alimentaire de la population étudiée. Elles s'appuient pour cela sur des enquêtes nationales sur les consommations alimentaires. Les EAT permettent d'identifier les substances pour lesquelles il existe, dans la population, un risque d'inadéquation d'apport (pour les minéraux) et/ou d'excès (pour les minéraux et les contaminants) et les aliments contribuant le plus à cet apport ou cette exposition.

Pour la somme des sept congénères du PBDE (hors BDE-209), les groupes d'aliments présentant les plus fortes teneurs sont les poissons, les crustacés et mollusques et le beurre. Pour l'ensemble des groupes d'aliments, les teneurs sont environ 4 à 12 fois plus basses que celles reportées pour l'Europe dans le rapport du JECFA² (JECFA 2006b). Ces différences peuvent être liées à l'interdiction en 2002 de certaines formulations par la publication d'une directive sur les équipements électroniques (2002/95/CE, 2002/96/CE, 2003/11/CE), avec mise en application au 1^{er} juillet 2006. Par ailleurs, les données utilisées par le JECFA en 2005 ne sont pas uniquement européennes, mais aussi nord américaines ; or les profils de PBDE utilisés aux Etats-Unis peuvent être très différents de ceux utilisés en Europe avant leur interdiction.

Lorsque le congénère BDE-209 est ajouté à la somme des sept congénères du PBDE, soit pour la somme des huit PBDE, s'ajoutent alors à ces groupes les plus contaminés le groupe des entremets et crèmes desserts, des sandwiches et casse-croûtes et les margarines.

2.5 Evaluation de l'exposition alimentaire dans la population générale en France hexagonale

Hexabromocyclododécane (HBCDD)

L'exposition moyenne journalière à la somme des trois congénères de HBCDD s'élève chez les adultes à 0,165 ng/kg pc/j sous l'hypothèse basse³ (0,091-0,351) et à 0,211 ng/kg pc/j sous l'hypothèse haute (0,133-0,401).

Chez les enfants (de 3 à 17 ans), l'exposition moyenne s'élève à 0,237 ng/kg pc/j sous l'hypothèse basse (0,152-0,402), et à 0,320 ng/kg pc/j sous l'hypothèse haute (0,231-0,488).

Au 95^{ème} percentile, l'exposition s'élève chez les adultes à 0,391 ng/kg pc/j sous l'hypothèse basse (0,194-1,335) et à 0,448 ng/kg pc/j sous l'hypothèse haute (0,240-1,379). Chez les enfants (de 3 à 17 ans), l'exposition au 95^{ème} percentile s'élève à 0,616 ng/kg pc/j sous l'hypothèse basse (0,326-1,490) et 0,734 ng/kg pc/j sous l'hypothèse haute (0,406-1,638).

² Comité d'experts FAO/OMS sur les additifs alimentaires (JECFA)

³ LB et UB : On appelle données censurées les résultats inférieurs aux limites de détection (LOD) ou de quantification (LOQ). Une méthode de substitution, adaptée des recommandations de l'OMS (WHO 2013), a été utilisée pour traiter ces données. Elle consiste à encadrer la teneur réelle en utilisant les valeurs les plus basses (hypothèse basse ou lower-bound, LB) et les plus hautes (hypothèse haute ou upper-bound, UB) possibles : l'hypothèse basse est alors calculée en considérant que toutes les valeurs en-dessous de la LOD sont égales à 0 et celles situées entre la LOD et la LOQ sont égales à la LOD, tandis que l'hypothèse haute est calculée en considérant que toutes les valeurs en-dessous de la LOD sont égales à la LOD et celles situées entre la LOD et la LOQ sont égales à la LOQ.

Polybromodiphényléthers (BDE 28, 47, 99, 100, 153, 154 et 183)

Chez les adultes, l'exposition moyenne à la somme des 7 congénères du PBDE s'élève à 0,202 ng/kg pc/j sous l'hypothèse basse (0,144-0,235), et à 0,212 ng/kg pc/j sous l'hypothèse haute (0,153-0,244).

Chez les enfants (de 3 à 17 ans), l'exposition s'élève à 0,313 ng/kg pc/j sous l'hypothèse basse (0,252-0,389), et à 0,331 ng/kg pc/j sous l'hypothèse haute (0,272-0,409).

Chez les adultes, l'exposition au 95ème percentile, s'élève à 0,636 ng/kg pc/j sous l'hypothèse basse (0,411-0,787), et à 0,643 ng/kg pc/j sous l'hypothèse haute (0,422-0,798).

Chez les enfants, l'exposition au 95^{ème} percentile s'élève à 0,868 ng/kg pc/j sous l'hypothèse basse (0,548-1,268), et à 0,894 ng/kg pc/j sous l'hypothèse haute (0,628-1,301).

Polybromodiphényléthers (BDE-28, 47, 99, 100, 153, 154, 183, 209)

Lorsque le congénère PBDE 209 est ajouté à la précédente somme, les niveaux d'exposition augmentent d'un facteur 2 à 3. Chez les adultes, l'exposition moyenne s'élève à 0,540 ng/kg pc/j sous l'hypothèse basse (0,463-0,648), et à 0,550 ng/kg pc/j sous l'hypothèse haute (0,472-0,659).

Chez les adultes, l'exposition au 95ème percentile s'élève à 1,164 ng/kg pc/j sous l'hypothèse basse (0,892-1,419), et à 1,176 ng/kg pc/j sous l'hypothèse haute (0,898-1,436). Chez les enfants, elle s'élève à 2,337 ng/kg pc/j sous l'hypothèse basse (2,013-3,039), et à 2,368 ng/kg pc/j sous l'hypothèse haute (2,037-3,086).

Chez les enfants, l'exposition moyenne s'élève à 1,008 ng/kg pc/j sous l'hypothèse basse (0,888-1,217), et à 1,026 ng/kg pc/j sous l'hypothèse haute (0,907-1,238).

2.6 Contribution des aliments à l'exposition dans la population générale en France hexagonale

HBCDD : les contributeurs majoritaires chez les adultes comme les enfants sont les charcuteries (27-29 %), la viande (15-21 %), les poissons chez les adultes (14 %) et les plats composés chez les enfants (14 %).

Polybromodiphényléthers (BDE 28, 47, 99, 100, 153, 154 et 183) : les contributeurs majoritaires sont les poissons pour les adultes, comme pour les enfants (>33%). Ces expositions sont 12 à 15 fois plus basses que les estimations faites pour la population générale française en 2006 sur la base des données de consommation d'étude individuelle nationale des consommations alimentaires 1 (Inca 1) et de données de contamination à la fois françaises et internationales.

Polybromodiphényléthers (BDE-28, 47, 99, 100, 153, 154, 183, 209) : quelle que soit l'hypothèse, les plus forts contributeurs à l'exposition des adultes, comme des enfants, sont les entremets et crèmes dessert (15-23 %), les poissons (12-17 %), et les produits ultra frais laitiers (11-15 %).

En conclusion : en adoptant une démarche conservatrice, le 95^{ème} percentile d'exposition des enfants à l'ensemble des huit PBDE (BDE-28, 47, 99, 100, 153, 154, 183, 209), sous l'hypothèse haute est plus de 40 000 fois inférieur à la valeur retenue par le JECFA de 100 µg/kg pc/jour pour les deux congénères réputés les plus toxiques (BDE-47 et 99) en-dessous de laquelle aucun effet toxique n'apparaît. Cette exposition est également inférieure à la valeur de 10 ng/kg pc/j proposée par le comité d'experts spécialisé « résidus et contaminants chimiques et physiques » de l'ANSES pour caractériser le risque lié aux PBDE. Les PBDE ne présentent donc pas de risque sanitaire pour la population française en l'état actuel des connaissances. Néanmoins, il convient de poursuivre les recherches sur la toxicité de ces composés.

2.7 L'estimation des concentrations dans les aliments, dans la population des enfants de moins de 3 ans en France hexagonale est la suivante

Somme des HBCD : les concentrations mesurées dans les aliments infantiles sont très variables, avec des valeurs comprises entre 2,46 et 42,85 pg.g⁻¹ en poids frais sous l'hypothèse haute. Une valeur atypique est observée dans un échantillon de préparations 1^{er} âge avec une concentration de 307 pg.g⁻¹ poids frais (alors que les valeurs observées sur les autres préparations 1^{er} âge sont comprises entre 0,22 et 8,15 pg.g⁻¹ poids frais). Les teneurs moyennes les plus élevées pour la somme des HBCDD sont observées dans les desserts lactés infantiles (43 pg.g⁻¹ poids frais sous l'hypothèse basse et sous l'hypothèse haute) et dans les boissons lactées (23 pg.g⁻¹ poids frais sous l'hypothèse basse et sous l'hypothèse basse). Pour les aliments courants, les concentrations moyennes les plus élevées pour la somme des HBCDD sont trouvées dans les poissons (177 pg.g⁻¹ en poids frais sous l'hypothèse basse et 185 pg.g⁻¹ en poids frais sous l'hypothèse haute) et la charcuterie (140 pg.g⁻¹ en poids frais sous l'hypothèse basse et 150 pg.g⁻¹ en poids frais sous l'hypothèse haute).

TBBPA : les concentrations moyennes les plus élevées sont observées dans les viennoiseries (914 ng.kg⁻¹), puis dans les préparations 1^{er} et 2^e âge (entre 45 et 60 ng.kg⁻¹ selon l'hypothèse de traitement des données censurées), les volailles (42 ng.kg⁻¹ sous l'hypothèse basse et 54 ng.kg⁻¹ sous l'hypothèse haute) et le chocolat (32 ng.kg⁻¹ sous l'hypothèse basse et 62 ng.kg⁻¹ sous l'hypothèse haute). La concentration la plus élevée a été mesurée dans un échantillon de brioche et pain brioché (914 ng.kg⁻¹).

BDE-209 : les teneurs moyennes les plus élevées sont observées dans les desserts lactés et les céréales infantiles (avec respectivement 69,57 et 66,94 pg.g⁻¹ en poids frais sous l'hypothèse basse). Pour les aliments courants, les niveaux de contamination moyens les plus élevés sont observés dans les entremets et crèmes desserts (244 pg.g⁻¹ en poids frais sous l'hypothèse basse) et les margarines (105 pg.g⁻¹ en poids frais sous l'hypothèse basse).

Somme des sept PBDE : les teneurs moyennes les plus élevées sont observées dans les pots légume-viande ou légumes-poisson, les céréales infantiles et les desserts lactés (4,35 pg.g⁻¹ en poids frais, 3,67 pg.g⁻¹ en poids frais et 3,22 pg.g⁻¹ en poids frais respectivement sous l'hypothèse basse).

Les concentrations moyennes les plus élevées par groupe d'aliments sont trouvées dans les poissons avec 578 pg.g⁻¹ en poids frais (sous l'hypothèse basse).

2.8 Evaluation de l'exposition alimentaire dans la population des enfants de moins de 3 ans en France hexagonale

Somme des trois HBCDD : l'exposition moyenne journalière sous l'hypothèse haute est comprise entre 0,505 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ chez les enfants âgés de 13-36 mois et 8,27 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ chez les enfants âgés de 1-4 mois. Le 90^{ème} percentile s'élève entre 0,880 et 43,2 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ sous l'hypothèse haute pour les mêmes classes d'âge. Le niveau de contamination atypique d'une des préparations infantiles 1^{er} âge explique ces fortes valeurs d'exposition chez les enfants âgés de 1-4 mois (consommateurs du lait concerné).

Chez les enfants les plus exposés (au-dessus du 90^{ème} percentile), l'exposition moyenne sous l'hypothèse haute se situe entre 1,16 et 54,8 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹.

TBBPA : sous l'hypothèse haute, l'exposition moyenne journalière est comprise entre 0,512 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ chez les enfants âgés de 13-36 mois et de 9,46 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ chez les enfants âgés de 1-4 mois sous l'hypothèse basse et entre 0,968 et 9,94 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ sous l'hypothèse haute pour les mêmes classes d'âge. Le 90^{ème} percentile se situe entre 1,44 et 31,3 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ sous l'hypothèse basse et entre 1,80 et 31,3 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ sous l'hypothèse haute pour les mêmes classes d'âge.

Chez les enfants les plus exposés (au-dessus du 90^{ème} percentile), l'exposition moyenne se situe entre 2,49 et 39,2 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ sous l'hypothèse basse et entre 2,87 et 39,2 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ sous l'hypothèse haute.

BDE-209 : l'exposition moyenne journalière sous l'hypothèse haute est comprise entre 1,12 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ chez les enfants âgés de 13-36 mois et 2,62 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ chez les enfants âgés de 1-4 mois. Le 90^{ème} percentile s'élève entre 1,88 et 3,91 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ sous l'hypothèse haute selon la classe d'âge retenue. Chez les enfants les plus exposés (au-dessus du 90^{ème} percentile), l'exposition moyenne sous l'hypothèse haute se situe entre 2,8 et 6,77ng.kg pc⁻¹.j⁻¹.

Somme des sept PBDE : l'exposition moyenne journalière sous l'hypothèse haute est comprise entre 0,448 et 0,926 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹. Le 90^{ème} percentile s'élève entre 0,694 et 1,56 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹. Chez les enfants les plus exposés (au-dessus du 90^{ème} percentile), l'exposition moyenne sous l'hypothèse haute se situe entre 1,32 et 1,78 ng.kg pc⁻¹.j⁻¹ pour les 7 PBDE selon les classes d'âge.

2.8 Contribution des aliments à l'exposition dans la population des enfants de moins de 3 ans en France hexagonale

Jusqu'à l'âge de 6 mois les contributeurs majeurs à l'exposition **aux HBCDD** sont les préparations infantiles 1^{er} âge puis 2^{ème} âge.

A l'âge de 5-6 mois, les boissons lactées et les desserts lactés infantiles apparaissent également comme contributeurs majeurs en plus des préparations 2^{ème} âge.

Pour la classe des enfants âgés de 7-12 mois, les contributeurs sont les mêmes que chez les 5-6 mois, auxquels s'ajoutent les pots de légumes-viande ou légumes-poisson.

Au total, la part de l'alimentation infantile représente de 84 à 100% des apports jusqu'à l'âge de 12 mois.

Enfin, chez les enfants âgés de 13-36 mois, la charcuterie apparait comme contributeur majeur. Chez les plus exposés, on retrouve les mêmes contributeurs jusqu'à 12 mois. En revanche, chez les enfants âgés de 13-36 mois, les charcuteries n'apparaissent plus comme contributeurs majeurs. Mais les boissons lactées, les desserts lactés infantiles et les poissons deviennent des contributeurs majeurs dans cette classe d'âge.

Pour le TBBPA, jusqu'à 12 mois, les préparations infantiles 1^{er} et 2^e âge sont les contributeurs majeurs à l'exposition. Chez les enfants âgés de 13-36 mois, les contributeurs majeurs sont les viennoiseries (56%) et les laits de croissance (26%). Chez les plus exposés, les contributeurs majeurs restent globalement inchangés, sauf pour les laits de croissance qui ne sont plus contributeurs majeurs chez les enfants âgés de 13-36 mois.

PBDE : sous l'hypothèse basse (LB), les contributeurs majeurs du BDE-209 sont :

les préparations infantiles 1^{er} âge puis 2^{ème} âge (avec 94% des apports des enfants âgés de 1-4 mois pour les préparations 1^{er} âge , 65% des apports pour les préparations 2^{ème} âge chez les enfants âgés de 5-6 mois et 45% des apports pour les préparations 2^{ème} âge chez les enfants âgés de 7-12 mois,) : les desserts lactés infantiles (14% des apports des enfants âgés de 5-12 mois), l'ultra frais laitier (14% chez les enfants âgés de 7-12 mois et 33% chez les enfants âgés de 13-36 mois) et les entremets et crèmes dessert (21% chez les enfants âgés de 13-36 mois).

Sept PBDE : Jusqu'à 12 mois, les contributeurs majeurs à l'exposition sont les préparations infantiles 1^{er} âge puis 2^{ème} âge : 97% des apports chez les 1-4 mois pour les préparations 1^{er} âge et 72% des apports pour les préparations 2^{ème} âge chez les enfants âgés de 5-6 mois (40% chez les enfants âgés de 7-12 mois). A partir de 7 mois, certains aliments courants contribuent de façon majeure à l'exposition aux 7 PBDE : les poissons (respectivement 12 et 27% pour les enfants âgés de 7-12 mois et de 13-36 mois) et l'ultra frais laitier (11% pour les enfants âgés de 7-12 mois et 16% pour les enfants âgés de 13-36 mois).

En conclusion : les marges de sécurité (MOS) liés à l'exposition alimentaire ont été calculées en utilisant la BMDL₁₀ de l'EFSA pour le BDE-209 (1700 µg.kg pc⁻¹.j⁻¹). Ces marges sont comprises entre 670 000 et 1 600 000 en considérant l'exposition moyenne, et entre 450 000 et 960 000 en considérant l'exposition au 90^{ème} centile. Ces marges sont donc largement supérieures à la valeur de 2,5 proposée par l'EFSA.

Aucun dépassement de la dose journalière tolérable (DJT) n'est observé pour la somme des sept PBDE, quelle que soit l'hypothèse retenue. Sous l'hypothèse haute (UB), le 90^{ème} centile d'exposition représente à peine 15% de la DJT, quelle que soit la classe d'âge considérée.

Sur la base des connaissances actuelles et des données disponibles, l'exposition alimentaire de la population infantile au BDE-209, à la somme des HBCDD, à la somme des sept PBDE, ainsi qu'au TBBPA est jugée tolérable.

2.9 Teneurs en polybromés dans les eaux et milieux associés

Une note d'appui scientifique et technique (AST) relative à la présence de composés polybromés dans les eaux continentales et les eaux destinées à la consommation humaine (EDCH) a été publiée par l'Anses en 2014⁴.

Outre les questions relatives aux propriétés physico-chimiques, aux sources de contamination et devenir dans l'environnement, aux méthodes analytiques, procédés de traitement des EDCH, cette note d'AST présente une synthèse bibliographique des concentrations des PBDE, des PBB et du HBCDD et du TBBPA dans les eaux continentales et EDCH, documentée au niveau national et international, sur la période allant de janvier 2000 à février 2014.

L'analyse des données de la littérature internationale concernant la contamination des milieux aquatiques par les composés polybromés montre :

- une grande variabilité des concentrations en PBDE, TBBPA et HBCDD selon les sites dans les eaux de surface,
- que les concentrations en PBDE, TBBPA et HBCDD dans les eaux de surface sont inférieures à la dizaine de ng/L et que deux publications, parmi les 24 identifiées, décrivent des concentrations inhabituellement élevées,
- qu'une seule étude portant sur l'analyse de ces composés dans les eaux souterraines a été identifiée,
- qu'une seule étude fait état de la recherche de PBB dans les eaux continentales, le résumé de l'article indiquant que ces molécules n'ont pas été quantifiées dans les échantillons analysés.

Par ailleurs, cette note s'appuie sur les informations issues des bases de données françaises sur l'eau. Parmi les 80481 résultats disponibles dans les bases de données SISE-Eaux et ADES pour la période 2000-2013, les concentrations en PBDE sont inférieures aux limites de quantification dans les eaux de surface et les eaux souterraines dans 99% des cas. D'après la base de données SISE-Eaux, les concentrations en PBDE sont inférieures aux limites de quantification dans tous les échantillons prélevés en sortie de stations de traitement ainsi qu'au niveau des unités de distribution d'EDCH.

Les nouvelles données recueillies pour la période 2014-2015 à l'occasion de la rédaction du Tome 2 du rapport relatif aux composés polybromés ne remettent pas en cause les conclusions de la note d'AST publiée en 2014.

Il apparaît que les concentrations dans les boues d'épuration et sédiments sont variables selon les composés considérés. Le BDE-209 est le congénère de la famille des PBDE majoritaire dans ces matrices.

En conclusion : compte tenu de leurs propriétés hydrophobes et lipophiles et de leur faible probabilité de présence dans les EDCH, une campagne nationale de prélèvements et d'analyses des retardateurs de flamme bromés PBDE, PBB, HBCDD et TBBPA dans les eaux (ressource utilisée pour la production d'EDCH, EDCH distribuées en réseau, eaux conditionnées) ne constitue pas une priorité par rapport à d'autres contaminants chimiques, les sédiments et boues d'épuration étant des matrices plus pertinentes.

⁴ <https://www.anses.fr/fr/system/files/EAUX2009sa0331-11.pdf>

3 Données de biosurveillance

3.1 Principales conclusions de l'expertise collective de l'INSERM intitulée «Reproduction et environnement» (2011)

La présence de plusieurs représentants de cette classe de polluants chimiques dans certains fluides et tissus biologiques humains est avérée. Dans le sérum ou le lait maternel, les teneurs observées sont, de façon générale, de l'ordre de quelques ng/g de lipide. Une tendance à une diminution des niveaux d'imprégnation a été rapportée pour les principaux congénères de type PBDE depuis le début des années 2000, correspondant à un arrêt de la production et de l'utilisation des deux mélanges industriels penta- et octa- BDE. En revanche, cette observation ne concerne pas le BDE 209, le HBCDD ou encore le TBBPA, les données disponibles concernant ces deux dernières substances sont extrêmement limitées voire inexistantes.

Si les quelques congénères PBDE les plus abondants ont fait l'objet de plusieurs études, il est à noter un manque très net de données concernant les composés qui, par ailleurs, restent ceux autorisés aujourd'hui en tant que retardateurs de flamme, incluant le déca-BDE, le HBCDD et le TBBPA, en termes d'exposition, d'imprégnation, de métabolisme, pharmacocinétique, et de lien avec certains paramètres cliniques.

3.2 Description des populations françaises étudiées

Les données de biosurveillance relatives à l'exposition de la population française aux retardateurs de flamme polybromés concernent les deux études de cohortes ELFE et PELAGIE, composées de femmes enceintes, recrutées sur la période allant de 2002 à 2007.

Cohortes ELFE et PELAGIE

Les niveaux d'imprégnation par les retardateurs de flamme polybromés (RFB) observés dans le cadre du volet périnatal de 2002 à 2007 étaient du même ordre de grandeur, voire inférieurs à ceux mesurés dans les études françaises antérieures. Cette baisse pourrait s'expliquer par une diminution de l'exposition depuis les années 2000, à la suite de la mise en place de l'utilisation de certains RFB, en particulier pour les PBB qui ne sont plus produits, ni utilisés en Europe. Cette diminution était particulièrement marquée pour le BDE 209 dont les restrictions d'usage ont été mises en place en 2008, à la suite des précédentes études réalisées en France. Compte tenu du nombre limité de données d'imprégnation disponibles pour les HBCDD, il n'a pas été possible de constater une éventuelle tendance séculaire en France des niveaux d'imprégnation pour cette famille de RFB.

4 Données disponibles sur les dangers des retardateurs de flamme polybromés

4.1 Classification sur la cancérogénicité

PentaBDE (mélange commercial) :

Molécules de classe D : substance non classifiable quant à sa cancérogénicité pour l'homme (Integrated Risk Information System, (IRIS), US EPA, dernière révision 1990).

BDE 209

Molécule de classe C : substance à possibilité cancérogène pour l'homme. (IRIS, US EPA, 2004).

Groupe 3 : inclassable quant à sa cancérogénicité (Classification du CIRC, 1999).

Les congénères moins bromés sont considérés en classe D (US EPA, 2004).

Le TBBPA évalué par le CIRC est classé possiblement cancérogène pour l'Homme (classe 2A, en préparation).

4.2 Classification en tant que perturbateur endocrinien

Les BDE99, 100 et 209 sont classés en tant que perturbateur endocrinien de catégorie 2 selon la classification DHI⁵.

4.3 Valeurs de référence existantes

Il n'existe pas de valeurs de référence (Valeur toxicologique de référence, Valeur guide de qualité de l'air intérieur ou Valeur limite d'exposition professionnelle) définies par l'Anses pour ces substances.

Les valeurs de référence proposées par les principaux organismes et institutions reconnus au niveau national ou supranational disponibles dans les bases de données toxicologiques sont détaillées dans le tome 3 du rapport.

Concernant les PBDE faiblement bromés (penta-mix et octa-mix), une VTR aiguë pour la voie orale de $0,03 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ est proposée sur la base d'une réduction du niveau d'hormone thyroïdienne T4 dans les sérums (foetus de rat) ainsi qu'une VTR pour une exposition intermédiaire par voie orale de $0,007 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ sur la base d'un effet hépatotoxique observé chez le rat (Agency for Toxic Substances and Disease registry, ATSDR (2015)). Il n'y a pas de VTR proposée pour une exposition chronique par voie orale.

Pour une exposition par inhalation, une VTR de $0,006 \text{ mg.m}^{-3}$ a été proposée par l'ATSDR en 2015, sur la base d'un effet thyroïdien observé chez le rat.

⁵ La commission européenne a demandé au *DHI water and environment* de dresser une liste de substances prioritaires par rapport à leur caractéristique PE pour une évaluation ultérieure

Concernant le Déca-mix, une VTR pour une exposition intermédiaire pour la voie orale de $10 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ a été proposée par l'ATSDR en 2015, sur la base d'une toxicité développementale observée chez le rat.

Pour sept PBDE, l'EFSA (EFSA, 2011) propose une dose journalière tolérable de $10 \text{ ng.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ pour une exposition périnatale chez le rat par voie orale, sur la base d'effets neuro-développementaux.

Pour l'HBCDD, l'EFSA (EFSA, 2011) propose une dose journalière tolérable de $3000 \text{ ng.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ pour une exposition chez la souris par voie orale, sur la base d'effets neuro-développementaux.

Concernant le Penta BDE (mélange commercial ou penta-mix), l'US EPA (1987) propose une VTR de $0,002 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ par la voie orale pour un effet à seuil fondée sur la base d'une induction des enzymes hépatiques, suite à une exposition subchronique observée chez le rat. Pour une exposition par inhalation et pour un effet à seuil, l'US EPA ne propose pas de VTR.

Concernant le BDE 47, l'US EPA (2008) propose une VTR de $0,0002 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ par voie orale pour un effet à seuil, sur la base d'effets sur le neurocomportement observés chez la souris, après une administration unique par gavage.

Concernant le BDE 99, l'US EPA (2008) propose une VTR de $0,0001 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ par voie orale pour un effet à seuil, sur la base d'effets sur le neurocomportement observés chez la souris, après une administration unique par gavage.

Concernant le BDE 153, l'US EPA (2008) propose une VTR de $0,0002 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ par voie orale pour un effet à seuil, sur la base d'effets sur le neurocomportement observés chez la souris, après une administration unique par gavage.

Concernant le BDE 209, l'US EPA (2008) propose une VTR de $0,007 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ par voie orale pour un effet à seuil, sur la base d'effets sur le neurocomportement observés chez la souris, après une administration unique par gavage.

Autres valeurs de référence

Il n'existe pas de dose journalière tolérable référencée sur la liste ESCO⁶ de l'EFSA.

5 Données postérieures aux rapports d'expertise (INSERM (2011) et EFSA (2013))

Le rapport d'expertise collective intitulé «Reproduction et environnement» de l'INSERM comporte un chapitre dédié aux retardateurs de flamme polybromés. L'EFSA a également publié des rapports sur les composés prioritaires (PBDE et HBCDD en 2011, TBBPA en 2013).

⁶ ESCO: projet de coordination scientifique de l'EFSA

Ces rapports ont permis d'identifier les effets pris en compte dans la recherche bibliographique et dont la synthèse est présentée dans le tome 3 du rapport : effets sur les fonctions de reproduction, sur la fonction thyroïdienne, sur le métabolisme, effets sur le cancer, sur les fonctions immunitaires, sur le neurodéveloppement et le foie.

Une synthèse des résumés publiés après 2010 (date de fin de la bibliographie de l'INSERM) figure ainsi dans le tome 3 du rapport.

Les données récentes obtenues sur l'animal indiquent que les RFB exercent une toxicité principalement sur les fonctions hépatiques, hormonales, reproductives mâles et femelles, nerveuses et immunitaires. Certains composés peuvent s'accumuler dans l'organisme. Les données sur la cancérogénicité sont encore limitées, mais les PBDE, les PBB ou les HBCDD ne sont pas considérés comme étant génotoxiques. Les études épidémiologiques sont difficilement interprétables du fait des limites méthodologiques qu'elles soulèvent.

Effets sur la thyroïde :

Les études animales montrent des effets des composés polybromés sur la fonction thyroïdienne et sur leur possible impact indirect sur la fonction de reproduction, compte tenu des interrelations entre ces deux fonctions. D'autres études réalisées chez les poissons et amphibiens ont permis d'affirmer que les retardateurs de flamme bromés ont un effet sur l'axe hypothalamo-thyroïdien. Cependant, ces effets semblent variables selon l'espèce, le produit testé ou le mode d'exposition, ce qui pose la question de savoir précisément à quel niveau de l'axe se produit cette interférence. Par ailleurs, il est pour l'instant impossible d'établir un lien entre les effets développementaux ou sur la reproduction de ces molécules et les anomalies observées de l'axe thyroïdien.

Plusieurs études chez l'Homme se sont intéressées aux liens possibles entre une exposition aux PBDE et des modifications des concentrations circulantes en hormones thyroïdiennes (HT) et/ou TSH. La plupart des études portent sur des expositions chez la femme enceinte ou en période néonatale. Les résultats divergent entre les différentes études et, bien souvent, seul un effectif limité est inclus dans l'étude, limitant ainsi la portée des conclusions.

Actuellement, il est encore difficile de caractériser chez l'Homme la toxicité chronique de ces composés, souvent étudiés sous forme de mélanges dans les études expérimentales, et dont les mécanismes d'action sont différents. Au sein de la famille des PBDE, la toxicité et la stabilité des composés tend à décroître avec l'augmentation du nombre d'atomes de brome.

Effets cancérogènes :

Une récente étude de cancérogénicité du *National Toxicology Program (USA)* de 2 ans (Harvey *et al.*, 2015) a révélé que l'exposition au TBBPA était associée à une nette augmentation du développement des tumeurs utérines, en particulier les cancers utérins, chez le rat. Les caractéristiques morphologiques et moléculaires des cancers de l'utérus chez les rats exposés au TBBPA ressemblent aux tumeurs de haut grade de type I observées chez les femmes, suggérant que l'exposition au TBBPA pourrait augmenter le risque de cancer.

Effets neurocomportementaux : plusieurs études humaines montrent des liens entre exposition aux PBDE et effets neurocomportementaux. Les résultats, parfois imprécis, du fait des effectifs, de la présence d'autres contaminants et d'effets simultanés par exemple sur la thyroïde, doivent être confortés.

D'autres recherches sont nécessaires pour appréhender la neurotoxicité des PBDE. Les coexpositions doivent ainsi être prises en compte. Les différents composés étudiés présenteraient des effets neurotoxiques différents.

3 Conclusions et perspectives

Les composés polybromés sont couramment utilisés comme retardateurs de flamme dans la fabrication de meubles et matériels électroniques. Il s'agit de composés lipophiles, qui donc ont tendance à s'accumuler dans les tissus biologiques riches en lipides.

Ainsi les aliments riches en lipides, et les poissons, constituent, chez l'Homme, une source majoritaire d'exposition *via* l'alimentation. Par ailleurs, les composés polybromés peuvent être présents dans l'environnement intérieur, qu'ils soient émis par volatilisation à partir de mousses ou par abrasion d'équipements présents dans le bâti. Ils se retrouvent ainsi dans l'air intérieur et les poussières des habitations. L'ingestion de poussières semble être une voie d'exposition importante, notamment chez les enfants.

L'usage des composés de la famille des polybromés est encadré par le Règlement REACH et/ou des réglementations sectorielles. La persistance dans l'environnement de certains composés polybromés (pentabromodiphényléther, tétrabromodiphényléther, hexabromodiphényléther, héptabromodiphényléther, HBCDD) malgré leur interdiction peut être à l'origine d'expositions humaines dont on peut craindre qu'elle soit durable. La présence de certains composés dans le lait maternel et le sang rapportée dans des études en Europe est à mettre en rapport avec la persistance de sources d'exposition.

Les effets toxiques des polybromés sur l'Homme ne sont actuellement pas confirmés. Seules des études sur des animaux mettent en évidence des effets potentiels perturbateurs endocriniens, neurotoxiques ou cancérigènes. Les polybromés ne présenteraient pour l'heure qu'une faible toxicité avérée pour l'Homme mais des travaux complémentaires sont nécessaires pour mieux documenter ces effets, les expositions et évaluer les risques potentiels pour la santé qui pourraient en découler.

Au terme de cette analyse, certains composés bromés tels que les BDE 28, 47, 99, 100, 153, 154, 183 et 209, le TBBPA et l'HBCDD ont été considérés par les experts comme pouvant justifier une évaluation. Au titre de la Stratégie Nationale sur les Perturbateurs Endocriniens 2017 (SNPE 2017), le BDE-47 a ainsi été retenu en vue d'une évaluation de son potentiel PE pour l'Homme et pour l'environnement.

Dr Roger GENET

Connaissances relatives aux données de toxicité sur les composés de la famille des polybromés

Saisine « n°2009-SA-0331 »

Tome 3

Version d'août 2017

Mots clés

Retardateurs de flamme, bromés, reprotoxicité, perturbation endocrinienne, polybromodiphényl éther, PBDE, HBCDD, TBBPA, effets sur le développement, métabolisme, PPAR, cancer, immunotoxicité, glande thyroïde, neurodéveloppement, hépatotoxicité.

Flame retardants, brominated substances, reprotoxicity, endocrine disruption, PBDE, HBCDD, TBBPA, developmental effects, metabolism, PPAR, cancer, immunotoxicity, thyroid gland, neurodevelopment, hepatotoxicity.

Présentation des intervenants

PRÉAMBULE : les experts externes, membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

GROUPE DE TRAVAIL « PERTURBATEURS ENDOCRINIENS » (2014-2016)

Président

M. Claude EMOND - Université de Montréal, Canada

Vice-président

M. Jean-Pierre CRAVEDI - Directeur de Recherche - INRA

Membres

M. Jean-Philippe ANTIGNAC - Ingénieur analyste - ONIRIS, LABERCA

Mme Martine APPLANAT - Directeur de recherche - INSERM

M. Brice APPENZELLER - Responsable de laboratoire de biomonitoring - Centre de Recherche Public en Santé, Luxembourg

M. Rémy BEAUDOUIN - Chargé de recherche - INERIS

M. Luc BELZUNCES - Directeur de recherche - Laboratoire de Toxicologie Environnementale, UR 406 A&E, INRA

Mme Marie-Chantal CANIVENC-LAVIER - Chargé de recherche - INRA

M. Nicolas CHEVALIER - Médecin endocrinologue - Praticien hospitalier - CHU de Nice

Mme Cecile CHEVRIER - Chargé de recherche - INSERM

Mme Martine CLAUW - Toxicologue-vétérinaire - INPT/ENVT, Université de Toulouse

Mme Elisabeth ELEFANT - Médecin spécialisé en tératologie humaine - Centre de référence sur les Agents tératogènes - AP-HP hôpital Armand Trousseau, Paris

Mme Florence EUSTACHE - Médecin - CECOS, AP-HP, Hôpital Jean Verdier, Paris

M. René HABERT - Professeur des universités - Université Paris Diderot

Mme Brigitte LE MAGUERESSE-BATTISTONI - Directeur de Recherche - INSERM

Mme Sakina MHAOUTY-KODJA - Directeur de recherche - CNRS

M. Christophe MINIER - Ecotoxicologue - Université du Havre

M. Luc MULTIGNER - Médecin épidémiologiste - INSERM

M. Henri SCHROEDER - Enseignant chercheur à l'URAFPA, INRA USC 340

M. Patrick THONNEAU - Médecin - INSERM

Mme Catherine VIGUIE - Vétérinaire - Directrice de Recherche INRA

PARTICIPATION ANSES

UESC

Céline DUBOIS

Marylise LAGALLE

François POUZAUD

Christophe ROUSSELLE

UERA

Anthony BRASSEUR

Emmanuelle DURAND

Valérie PERNELET-JOLY

UERALIM

Gilles RIVIERE

UERE

Justine JOUET

Pascale PANETIER

Table des matières

Sigles et abréviations	6
Liste des tableaux	9
Liste des figures	11
Liste des annexes	11
1 Données disponibles sur la toxicité des retardateurs de flamme polybromés	12
1.1 Classification CMR	15
1.2 Valeurs de référence existantes.....	15
2 Données postérieures au rapport d'expertise de l'Inserm (2011)	18
Recherche bibliographique (2010-2015)	18
2.1 .Données de toxicocinétique.....	21
2.2 Données de biosurveillance	25
2.3 Effets sur les systèmes reproducteurs mâle et femelle issus des principales conclusions des expertises de l'Inserm (2011) et de l'EFSA	43
2.4 Effets sur la fonction de reproduction : données postérieures à l'expertise collective de l'Inserm	46
Etudes sur le système reproducteur mâle.....	46
Etudes sur le système reproducteur mâle.....	47
2.5 Autres effets	48
2.5.1. Effets sur la fonction thyroïdienne	48
2.5.2. Métabolisme et obésité	57
Autres effets – PPAR	58
2.5.3. Cancers	60
2.5.4. Immunotoxicité	64
2.5.5. Troubles du neurodéveloppement.....	67
2.5.6. Hépatotoxicité	81
2.6 Données d'écotoxicité.....	83
3 Annexes	87

Sigles et abréviations

AFSSAPS :	Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé
AFSSA :	Agence française de sécurité sanitaire des aliments
AFSSET :	Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail
ANSES :	Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
ANSM :	Agence national de sécurité du médicament et des produits de santé
ANOVA :	Analyse de variances
ATSDR :	Agency for Toxic Substances and Disease registry
AUC :	Aire sous la courbe
BMD :	Bench Mark Dose
BPL :	Bonnes pratiques de laboratoire
CAR :	Constitutive Androstane Receptor
CAS :	Chemical abstract service
CCRIS :	Chemical carcinogenesis research information system
CE :	Commission européenne
CE50 :	Concentration efficace induisant 50% de l'effet maximal
CHL :	Cellules de poumons de hamster chinois
CHO :	Cellules d'ovaires de hamster chinois
CI50 :	Concentration Inhibant 50% de l'effet maximal
CLP :	Classification, Labelling and Packaging of substances and mixtures
CONTAM :	Groupe scientifique sur les contaminants de la chaîne alimentaire
CRAM :	Caisse régionale d'assurance maladie
CSST :	Commission de la santé et de la sécurité au travail
CTD :	Comparative Toxicogenomics Database
CTICM :	Centre Technique Industriel de la Construction Métallique
CTIF :	Centre Technique des Industries de la Fonderie
DE50 :	Dose efficace induisant 50% de l'effet
DGS :	Direction générale de la santé
DHT :	Dihydrotestostérone
DJT :	Dose journalière tolérable
DL50 :	Dose létale 50%
DMSO :	Diméthyl sulfoxyde
E2 :	17 β -Estradiol
EAT :	Etude de l'alimentation totale
ECHA :	European CHEmical Agency
EDEN :	Etude des déterminants pré- et postnatal du développement de la santé de l'enfant
EE :	Ethinyl estradiol
EEF :	Estradiol Equivalency Factor = CE ₅₀ Estradiol / CE ₅₀ Molécule testée
EFSA :	European Food Safety Agency
EINECS :	European INventory of Existing Commercial chemical Substances

ER :	Récepteur aux estrogènes
ER α :	Récepteur aux estrogènes (ou Estrogen Receptor)
ER β :	Récepteur aux estrogènes (ou Estrogen Receptor)
ERR γ :	Récepteur apparenté aux récepteurs aux estrogènes (Estrogen Related Receptor)
ERS :	Evaluation des risques sanitaires
FDS :	Fiche de données de sécurité
FES :	Fluorescent non-steroid estrogen
FICG :	Fédération de l'Imprimerie et de la Communication Graphique
FIPEC :	Fédération des industries des peintures, encres, couleurs, colles et adhésifs
FOPH :	Federal Office of Public Health
JO :	Journal officiel
GC-FID :	Chromatographie gazeuse avec détection par ionisation de flamme
GT :	Groupe de travail
HBCDD :	Hexabromocyclodécane
HPV :	High Production Volume
HGPRT :	Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransférase
HS :	Hors sujet
HSDB :	Hazardous Substances Data Bank
Ineris :	Institut national de l'environnement industriel et des risques
Insee :	Institut national de la statistique et des études économiques
InVS :	Institut de veille sanitaire
INPES :	Institut national de prévention et d'éducation pour la santé
INRS :	Institut national de recherche et sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles
Inserm :	Institut national de la santé et de la recherche médicale
INF γ :	Interféron gamma
IPCS :	International Programme on Chemical Safety
IRIS :	Integrated Risk Information System
LABERCA	Laboratoire d'étude des résidus et contaminants dans les aliments
Kd :	Constante de dissociation = concentration du ligand occupant 50 % des récepteurs
Koc :	Coefficient d'adsorption du sol
Kow :	Coefficient de partage octanol-eau
LD :	Limite de détection
LDL :	Low Density Lipoprotein
LIE :	Limite inférieure d'explosivité
LOAEL :	Lowest Observed Adverse Effect Level
LQ :	Limite de quantification
LSE :	Limite supérieure d'explosivité
MAPK :	Mitogen Activated Protein Kinases
MRL :	Minimal Risk Level
NAF :	Nomenclature d'activités françaises

NK :	Natural Killer
NOAEL :	No Observed Adverse Effect Level
NTP :	National Toxicology Program
OCDE :	Organisation pour la coopération et le développement économique
OMS :	Organisation mondiale de la santé
OQAI :	Observatoire de la qualité de l'air intérieur
PE :	Perturbateur endocrinien
PgR :	Récepteur à la progestérone
PND :	Post natal day
Po :	Per os (voie orale)
POP :	Polluants organiques persistants
PPAR γ :	Peroxisome proliferator-activated receptors gamma
ppm :	partie par million
PXR :	Pregnane X Receptor
RBA :	Relative Binding Affinity = $(CE_{50} \text{ Estradiol} / CE_{50} \text{ Molécule testée}) * 100$
REACH :	Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals
RF :	Retardateurs de flamme
RfD :	Dose de référence
SA :	Substance active
SGH :	Système global harmonisé
TBBPA :	Tétrabromobisphénol A
T3 :	Triiodothyronine
T4 :	Thyroxine
TDI :	Tolerable Daily Intake (Dose journalière tolérable)
UE :	Union européenne
US EPA :	United States Environment Protection Agency
VGAI :	Valeur guide de qualité d'air intérieur
VLEP :	Valeur Limite d'Exposition Professionnelle
Vtg :	Vitellogénine
VTR :	Valeur toxicologique de référence

Liste des tableaux

Tableau 1. VTR de l'ATSDR « <i>Toxicological profile for polybrominated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers</i> » - US department of health and human services – public health Service – ATSDR (2015)	15
Tableau 2. Tableau récapitulatif de la recherche bibliographique conduite sur la période 2010-2015. 19	
Tableau 3. Présentation des cohortes françaises dans lesquelles l'exposition aux retardateurs de flamme polybromés a été évaluée	27
Tableau 4. Distributions des concentrations sériques des RFB chez les mères incluses, ajustées sur les lipides (en ng/g de lipides) (volet périnatal).	28
Tableau 5. Comparaison des concentrations sériques (réelles ou estimées) moyennes en PBDE (en ng/g de lipides) observées chez les femmes enceintes ou en âge de procréer en France et à l'étranger	33
Tableau 6. Comparaison des concentrations sériques moyennes en HBCDD (en ng/g de lipides) observées chez les femmes enceintes ou en âge de procréer en France et à l'étranger (Volet périnatal).....	34
Tableau 7. Synthèse des études de biosurveillance (recherche bibliographique 2010-2015)	41
Tableau 8. Tableau récapitulatif de la recherche bibliographique par congénère avec le mot clé « reproduction » sur la période 2010-2015	89
Tableau 9. Tableau récapitulatif de la recherche bibliographique par congénère avec le mot clé "thyroid" sur la période 2010-2015	89
Tableau 10. Tableau récapitulatif de la recherche bibliographique par congénère avec le mot clé "PPAR" sur la période 2010-2015	89
Tableau 11: Tableau récapitulatif de la recherche bibliographique par congénère avec le mot clé « cancer » sur la période 2010-2015.....	90
Tableau 12. Tableau récapitulatif de la recherche bibliographique par congénère avec le mot clé « immunotoxicity » sur la période 2010-2015.....	90
Tableau 13. Tableau récapitulatif de la recherche bibliographique pour le BDE-209 avec les différents mots clés utilisés pour les effets sur le système nerveux sur la période 2010-2015	90
Tableau 14. bilan de la recherche bibliographique pour le HBCDD avec les différents mots clés utilisés pour les effets sur le système nerveux sur la période 2010-2015	91
Tableau 15. Récapitulatif de la recherche bibliographique pour le HBCDD avec les différents mots clés utilisés pour les effets sur le système nerveux sur la période 2010-2015	91
Tableau 16. Bilan de la recherche bibliographique pour le TBBPA avec les différents mots clés utilisés pour les effets sur le système nerveux sur la période 2010-2015	91
Tableau 17. Récapitulatif de la recherche bibliographique pour le TBBPA avec les différents mots clés utilisés pour les effets sur le système nerveux sur la période 2010-2015	92
Tableau 18. Bilan de la recherche bibliographique de BDE-28 + « ... » dans le titre/résumé/mots clés (2010-2015)	92
Tableau 19. Récapitulatif de la recherche bibliographique pour le BDE-28 avec les différents mots clés utilisés pour les effets sur le système nerveux sur la période 2010-2015	92
Tableau 20. Bilan de la recherche bibliographique de BDE-47 + « ... » dans le titre/résumé/mots clés (2010-2015)	93
Tableau 21. Récapitulatif de la recherche bibliographique pour le BDE-47 avec les différents mots clés utilisés pour les effets sur le système nerveux sur la période 2010-2015	93
Tableau 22 : Bilan de la recherche bibliographique de BDE-99 + « ... » dans le titre/résumé/mots clés (2010-2015)	93
Tableau 23. Récapitulatif de la recherche bibliographique pour le BDE-99 avec les différents mots clés utilisés pour les effets sur le système nerveux sur la période 2010-2015	94
Tableau 24. Bilan de la recherche bibliographique de BDE-100 + « ... » dans le titre/résumé/mots clés (2010-2015).....	94

Tableau 25. Bilan de la recherche bibliographique de BDE-153 + « ... » dans le titre/résumé/mots clés (2010-2015).....	94
Tableau 26. Bilan de la recherche bibliographique de BDE-154 + « ... » dans le titre/résumé/mots clés (2010-2015)	94
Tableau 27. Bilan de la recherche bibliographique de BDE-183 + « ... » dans le titre/résumé/mots clés (2010-2015)	95
Tableau 28. Bilan de la recherche bibliographique de BDE- 209 + « ... » dans le titre/résumé/mots clés (2010-2015).....	95
Tableau 29. Récapitulatif de la recherche bibliographique par congénère avec le mot clé « biomonitring » sur la période 2010-2015.....	95
Tableau 30. Récapitulatif de la recherche bibliographique par congénère avec le mot clé « blood » sur la période 2010-2015.....	96

Liste des figures

Figure 1. Voies métaboliques suivies par les PBDE	22
Figure 2. Lowest BMD10 and BMDL10 for the critical effects (EFSA, 2011).....	87

Liste des annexes

Annexe 1	87
Annexe 2.....	89
Annexe 3	97
Annexe 4.....	190

1 Contexte, objet et modalités d'élaboration de ce rapport intermédiaire

1.1 Contexte

En 2009, le ministère chargé de la santé a saisi l'Afssaps, l'Afssa, l'Afsset, l'InVS et l'INPES en vue d'une expertise sur la question des PE rentrant dans leurs champs de compétences respectifs. L'Inserm, pour sa part, a notamment été chargé de réaliser une expertise collective sur les effets de substances dites PE en rassemblant et en analysant l'ensemble de la littérature scientifique disponible. Sur la base des substances identifiées *via* cette expertise comme préoccupantes pour leur toxicité sur la reproduction et/ou leur action de PE, l'Agence a été saisie, avec pour mission :

- de hiérarchiser les substances à étudier en priorité,
- d'identifier les produits et articles contenant des substances reprotoxiques ou susceptibles de l'être (PE notamment),
- d'analyser et, si possible, de quantifier les voies d'exposition de la population générale à ces substances. Une analyse spécifique sera réalisée concernant les populations vulnérables et les personnes exposées à ces substances dans un cadre professionnel, à travers l'utilisation de produits destinés au grand public,
- de procéder à une évaluation des risques et des bénéfices (les bénéfices sanitaires attendus pour certains produits).

L'un des objectifs de ce travail est, *in fine*, d'identifier les substitutions possibles pour les produits ou substances pour lesquels un risque sanitaire aurait été mis en évidence en s'assurant que les candidats à la substitution identifiés aient pu faire l'objet d'une évaluation des risques préalable à leur autorisation.

Parmi les substances listées dans la saisine de la DGS de 2009 figuraient les composés de la famille des polybromés.

1.2 Méthodologie

— **Le troisième tome** compile les données disponibles sur la toxicité de ces composés ainsi que les publications postérieures aux rapports d'expertise consultés.

Ce troisième tome, qui concerne la partie toxicité, utilise les données existantes :

— de l'expertise collective de l'**Inserm** 2011 concernant les retardateurs de flamme polybromés

« Reproduction et environnement » :

<http://www.inserm.fr/thematiques/sante-publique/expertises-collectives>

— des rapports publiés par l'**EFSA** en 2011 et en 2013 pour le TBBPA

« Scientific Opinion on Polybrominated DiphenylEthers in Food » :
<http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/2156> ;

« Scientific Opinion on Tetrabromobisphénol A and its derivatives in Food » :
<http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/2477> ;

« Scientific Opinion on Hexabromocyclododecanes in Food » :
<http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/2296>.

— du rapport publié par l'**US EPA** sur les PBDE

<https://www.epa.gov/assessing-and-managing-chemicals-under-tsca/polybrominated-diphenyl-ethers-pbdes>

— de Biosurveillance françaises : cohortes ELFE (cohorte de femmes enceintes, France), PELAGIE (cohorte mères-enfants, en Bretagne)

— des fiches **INRS** et fiches **INERIS**

Il existe une fiche toxicologique (n°251) concernant le décabromodiphényléther sur le site de l'INRS : http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_251.

Il existe également une fiche sur le décabromodiphényléther sur le site de l'INERIS : www.ineris.fr/substances/fr/substance/getDocument/2566, sur les octabromodiphényléthers : www.ineris.fr/substances/fr/substance/getDocument/2606 et sur les pentabromodiphényléthers : www.ineris.fr/substances/fr/substance/getDocument/2608.

Afin d'évaluer la toxicité de chacune de ces substances, notamment sur la fonction de reproduction et la fonction endocrine, l'Anses a conduit une recherche bibliographique en janvier 2016 sur la période 2010-2015.

Les bases de données suivantes ont été consultées : PubMed, Scopus, European Chemicals Bureau : EURAR/ESIS, ECHA (European Chemicals Agency), EFSA, TOXNET, ChemIDplus, Toxline, HSDB (Hazardous Substances Data Bank), CCRIS (Chemical Carcinogenesis Research Information System), CTD (Comparative Toxicogenomics Database), Genetox, GESTIS, CSST, INCHEM : <http://www.inchem.org/index.html>, OCDE-SIDS initial assessment profile : <http://www.chem.unep.ch/irptc/sids/OECD/SIDS/sidspub.html> et <http://webnet3.oecd.org/echemportal/et>, ATSDR (Agency for toxic substances and diseases registry), CDC (Chemical Emergency Response), IDLH (Immediately Dangerous to Life or Health Concentrations) and Criteria documents, CCHST (Canadian Center for Occupational Health and Safety) <http://ccinfoweb.cchst.ca/> (French), INRS (Institut national de recherche et de sécurité).

Fiches toxicologiques: Toxicity Profiles of the American Risk Assessment Information System (RAIS), Programme d'évaluation des substances d'intérêt prioritaire de Santé Canada : <http://risk.lsd.ornl.gov/>, EPA, IRIS (Integrated Risk Information System), Toxicological reviews, ATSDR (Agency for Toxic Substances and Diseases Registry), Toxicological Profiles, Santé Canada, OMS, INERIS, NIOSH, OSHA, SIDS, CIS (Recherche Centre International de Sécurité et de Santé au Travail).

Bases de données bibliographiques et Encyclopédie de Sécurité et de Santé au travail.

Les résultats de la recherche bibliographique ont été répartis de la manière suivante :

- articles rapportant les résultats d'études épidémiologiques ou des études de cas chez l'homme : « données humaines » ;
- articles rapportant les résultats d'études expérimentales réalisées sur l'animal de laboratoire et apportant des informations sur les effets potentiels de la substance sur la fonction de reproduction et la fonction endocrine en lien avec la sphère de la reproduction (par exemple, études de reprotoxicité, de toxicité chronique ou subchronique, de cancérogenèse) : « études chez l'animal » ;
- articles rapportant les résultats d'études *in vitro*.

Ce document présente un état des connaissances des données de toxicité, et d'exposition sur cette famille de substances et n'a pas vocation à conclure sur la véracité des effets

observés. Ce travail se donnait pour but in fine de caractériser les principaux effets toxiques en lien avec une exposition à ces composés et de déterminer les sources principales d'exposition humaine. Il a permis d'identifier les substances pour lesquelles une évaluation des risques sanitaires pourrait se justifier du fait de leurs usages étendus et/ou de leur persistance dans l'organisme humain ou dans l'environnement et du fait de leur toxicité potentielle, notamment vis-à-vis du développement et des fonctions de la reproduction.



2 Données disponibles sur la toxicité des retardateurs de flamme polybromés

2.1 Classification sur la cancérogénicité

Penta-BDE (mélange commercial)

Molécules de classe D : substance non classifiable quant à sa cancérogénicité pour l'homme [IRIS (Integrated Risk Information System), US EPA, dernière révision 1990]

Le seul PBDE évalué par l'IARC est le déca-BDE (BDE-209).

Molécule de classe C : substance à possibilité cancérogène pour l'homme. [IRIS, US EPA, 2004].

Les congénères moins bromés sont considérés en classe D (2004).

Groupe 3 : inclassable quant à sa cancérogénicité (Classification de l'IARC, 1999).

Le TBBPA évalué par l'IARC est classé possiblement cancérogène pour l'Homme (classe 2A, en préparation).

2.2 Valeurs de référence existantes

Ce chapitre présente, d'une part, les valeurs de référence proposées par les principaux organismes et institutions reconnus au niveau national ou supranational disponibles dans les bases de données toxicologiques.

Il n'existe pas de Valeurs toxicologiques de référence (VTR) définies par l'ANSES pour ces substances.

Valeurs toxicologiques de référence de l'ATSDR (*Agency for Toxic Substances and Disease registry*)

Tableau 1. VTR de l'ATSDR « *Toxicological profile for polybrominated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers* » - US department of health and human services – public health Service – ATSDR (2015)

PBDE faiblement bromés : penta-BDE et octa-BDE (mélanges commerciaux)		
Toxicité aiguë : voie orale		
Effet critique	Dose expérimentale	MRL
Réduction du niveau d'hormone thyroïdienne T4 dans les sérums (fœtus de rat)	NOAEL = 1 mg.kg⁻¹.j⁻¹	0,03 mg.kg⁻¹.j⁻¹
Toxicité intermédiaire : voie orale		
Effet critique	Dose expérimentale	MRL
Effet hépatotoxique (rat)	LOAEL = 2 mg.kg⁻¹.j⁻¹	0,007 mg.kg⁻¹.j⁻¹

Toxicité chronique – voie orale : aucune donnée**Toxicité intermédiaire : inhalation**

Effet critique	Dose expérimentale	MRL
Effet thyroïdien (rat)	NOAEL = 1,1 mg.m ⁻³	0,006 mg.m ⁻³

Déca-BDE**Toxicité intermédiaire : voie orale**

Effet critique	Dose expérimentale	MRL
Toxicité développementale (rat)	NOAEL = 1000 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹	10 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹

Valeurs toxicologiques de référence de l'US EPA**Penta-BDE (mélange commercial)****Effets à seuil - voie orale**

Effet critique	Valeur de référence	UF	MF	RfD
Induction des enzymes hépatiques subchronique, rat, gavage	NOAEL = 1,77 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹ LOAEL = 3,52 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹ (dose expérimentale)	1000	1	0,002 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹

Effets à seuil – inhalation : aucune donnée

Référence : pentabromodiphenylether (CASRN 32534-81-9) – IRIS – US EPA; mis en ligne en 1987.

BDE-47**Effets à seuil - voie orale**

Effet critique	Valeur de référence	UF	RfD
Effets sur le comportement neurobiologique dose unique, souris, gavage	BMDL = 0,35 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹ BMDL = 0,47 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹ (dose expérimentale)	3000	0,0002 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹

Référence : BDE-47 (CASRN 5436-43-1) – IRIS – US EPA; mis en ligne en 2008.

BDE-99**Effets à seuil - voie orale**

Effet critique	Dose expérimentale	UF	RfD
----------------	--------------------	----	-----

Effets sur le comportement neurobiologique dose unique, souris, gavage	BMDL = 0,29 mg.kg⁻¹.j⁻¹	3000	0,0001 mg.kg⁻¹.j⁻¹
	BMDL = 0,41 mg.kg⁻¹.j⁻¹ (dose expérimentale)		

Référence : BDE-99 (CASRN 60-348-60-9) – IRIS – US EPA; mis en ligne en 2008.

BDE-153

Effets à seuil - voie orale

Effet critique	Valeur de référence	UF	RfD
Effets sur le comportement neurobiologique dose unique, souris, gavage	NOAEL = 0,45 mg.kg⁻¹.j⁻¹	3000	0,0002 mg.kg⁻¹.j⁻¹
	LOAEL = 0,9 mg.kg⁻¹.j⁻¹ (dose expérimentale)		

Référence : BDE-153 (CASRN 68631-49-2) – IRIS – US EPA; mis en ligne en 2008.

BDE-209

Effets à seuil - voie orale

Effet critique	Valeur de référence	UF	RfD
Effets sur le comportement neurobiologique dose unique, souris, gavage	NOAEL = 2,22 mg.kg⁻¹.j⁻¹	300	0,007 mg.kg⁻¹.j⁻¹
	LOAEL = 20,1 mg.kg⁻¹.j⁻¹ (dose expérimentale)		

Référence : BDE-209 (CASRN 1163-19-5) – IRIS – US EPA; mis en ligne en 2008.

Des BMDLs ont été définies par l'EFSA pour les PBDE, le TBBPA et l'HBCDD (Cf. Annexe 1)

Valeur guide de qualité d'air intérieur (VGAI)

Il n'existe pas de VGAI française définie par l'Anses pour ces substances.

Valeurs limites d'exposition professionnelle (VLEP)

Il n'existe pas de VLEP française définie par l'Anses pour ces substances.

Doses journalières admissibles (DJA)

Il n'existe pas de DJA référencées sur la liste ESCO¹ de l'EFSA.

¹ ESCO : projet de coordination scientifique de l'EFSA.

3 Données postérieures au rapport d'expertise de l'Inserm (2011)

En juin 2011, l'Inserm a publié un rapport d'expertise collective intitulé «Reproduction et environnement» qui présente les travaux du groupe d'experts réunis par l'Inserm pour répondre à la demande du ministère de la santé concernant les substances chimiques accessibles au grand public et leurs effets sur la reproduction. Ce rapport comporte un chapitre dédié aux retardateurs de flamme polybromés. Dans le cadre de ce travail, par types d'effets ou d'études, un extrait des conclusions issues du rapport de l'Inserm est inséré en début de section suivi du recensement des études récentes postérieures à l'expertise de l'Inserm.

Recherche bibliographique (2010-2015)

Une recherche bibliographique a été conduite afin d'inventorier les travaux de recherches publiés sur les bases Pubmed et Scopus. Pubmed est une base de données réunissant les publications de littérature biomédicale, des sciences de la vie et d'ouvrages en ligne de Medline (USA). Sur Medline, les articles sont indexés en Mesh (opérateurs) qui facilitent les recherches bibliographiques. Cependant, cette indexation prend un certain temps. Pubmed a l'avantage de contenir les publications qui n'ont pas encore été indexées en Mesh. Scopus est une autre base de données dont les sources sont plus larges : elle réunit des citations issues de la littérature scientifique, technologique, médicale, concernant les sciences sociales, les arts et les sciences humaines. Cette base contient davantage de données mais ne possède pas d'indexation par mot clé.

Les résultats de la recherche se sont avérés plus importants sur la base Scopus : cette base a été utilisée pour la suite des recherches bibliographiques. Les mots clés sont recherchés dans le titre, l'abstract ou les mots clés des articles. Bien que cette recherche ne soit focalisée que sur la période de 2010 à aujourd'hui, une première recherche « non détaillée » a également été conduite sans limite de temps afin d'évaluer la quantité totale d'article potentiellement disponibles.

Les résultats par congénère sont compilés dans le tableau suivant :

- La première colonne correspond au nombre d'articles pour les mots clés définis sur la période 2010-2015 (2010 et 2015 étant inclus) ;

Tableau 2. Tableau récapitulatif de la recherche bibliographique conduite sur la période 2010-2015

BDE-28	298	BDE-47	779
BDE-28 + exposure	135	BDE-47 + exposure	376
BDE-28 + biomonitoring	6	BDE-47 + biomonitoring	32
BDE-28 + reproduction	9	BDE-47 + reproduction	24
BDE-28 + thyroid	19	BDE-47 + thyroid	53
BDE-28 + BLOOD	51	BDE-47 + BLOOD	137
BDE-28 + cord blood	10	BDE-47 + cord BLOOD	22
BDE-28 + female reproductive	4	BDE-47 + female reproductive	25
BDE-28 + male reproductive	3	BDE-47 + male reproductive	16
BDE-28 + PPAR	0	BDE-47 + PPAR	3
BDE-28 + cancer	2	BDE-47 + cancer	11
BDE-28 + neurodevelopment	5	BDE-47 + neurodevelopment	16
BDE-28 + brain	5	BDE-47 + brain	30
BDE-28 + immunotoxicity	0	BDE-47 + immunotoxicity	6
BDE-99	533	BDE-100	415
BDE-99 + exposure	260	BDE-100 + exposure	188
BDE-99 + biomonitoring	20	BDE-100 + biomonitoring	15
BDE-99 + reproduction	15	BDE-100 + reproduction	15
BDE-99 + thyroid	38	BDE-100 + thyroid	16
BDE-99 + BLOOD	99	BDE-100 + BLOOD	75
BDE-99 + male reproductive	8	BDE-100 + male reproductive	7
BDE-99 + female reproductive	15	BDE-100 + female reproductive	13
BDE-99 + cord blood	18	BDE-100 + cord blood	9
BDE-99 + PPAR	0	BDE-100 + PPAR	0
BDE-99 + cancer	2	BDE-100 + cancer	2
BDE-99 + neurodevelopment	11	BDE-100 + neurodevelopment	10
BDE-99 + brain	16	BDE-100 + brain	4
BDE-99 + immunotoxicity	0	BDE-100 + immunotoxicity	0
BDE-153	370	BDE-154	212
BDE-153 + exposure	199	BDE-154 + exposure	97
BDE-153 + biomonitoring	25	BDE-154 + biomonitoring	10
BDE-153 + reproduction	10	BDE-154 + reproduction	8
BDE-153 + thyroid	19	BDE-154 + thyroid	13
BDE-153 + male reproductive	5	BDE-154 + male reproductive	3
BDE-153 + female reproductive	8	BDE-154 + female reproductive	7
BDE-153 + BLOOD	102	BDE-154 + BLOOD	47
BDE-153 + cord blood	16	BDE-154 + cord blood	9
BDE-153 + PPAR	0	BDE-154 + PPAR	0
BDE-153 + cancer	1	BDE-154 + cancer	3
BDE-153 + neurodevelopment	8	BDE-154 + neurodevelopment	3
BDE-153 + brain	14	BDE-154 + brain	3
BDE-153 + immunotoxicity	0	BDE-154 + immunotoxicity	0

BDE-183	195	BDE-209	664
BDE-183 + exposure	90	BDE-209 + exposure	277
BDE-183 + biomonitoring	7	BDE-209 + biomonitoring	19
BDE-183 + reproduction	3	BDE-209 + reproduction	14
BDE-183 + thyroid	8	BDE-209 + thyroid	32
BDE-183 + BLOOD	33	BDE-209 + BLOOD	79
BDE-183 + male reproductive	1	BDE-209 + male reproductive	8
BDE-183 + female reproductive	2	BDE-209 + female reproductive	12
BDE-183 + cord blood	4	BDE-209 + cord blood	11
BDE-183 + PPAR	0	BDE-209 + PPAR	0
BDE-183 + cancer	7	BDE-209 + cancer	9
BDE-183 + neurodevelopment	2	BDE-209 + neurodevelopment	7
BDE-183 + brain	4	BDE-209 + brain	21
BDE-183 + immunotoxicity	0	BDE-209 + immunotoxicity	5
		BDE-209 + urin	0
HBCDD		TBBPA	371
HBCDD + exposure	163	TBBPA + exposure	113
HBCDD + biomonitoring	11	TBBPA + biomonitoring	3
HBCDD + reproduction	8	TBBPA + reproduction	6
HBCDD + thyroid	21	TBBPA + thyroid	26
HBCDD + blood	41	TBBPA + blood	28
HBCDD + male reproductive	11	TBBPA + male reproductive	6
HBCDD + female reproductive	10	TBBPA + female reproductive	5
HBCDD + cord blood	0	TBBPA + cord blood	2
HBCDD + cancer	11	TBBPA + cancer	10
HBCDD + PPAR	0	TBBPA + PPAR	8
HBCDD + neurodevelopment	0	TBBPA + neurodevelopment	1
HBCDD + brain	13	TBBPA + brain	15
HBCDD + immunotoxicity	2	TBBPA + immunotoxicity	1
HBCDD + urin	0	TBBPA + urin	0

Exemple de recherche Scopus :

TITLE-ABS-KEY ("BDE-209"
TO (PUBYEAR , 2015) OR
TO (PUBYEAR , 2013) OR
TO (PUBYEAR , 2010)) AND
" BLOOD ") AND
(LIMIT-TO (PUBYEAR , 2014) OR
LIMIT-TO (PUBYEAR , 2012) OR
LIMIT-

Les études prises en compte dans ce travail sont réalisées soit chez l'homme, chez l'animal (limitée au rongeur) ou *in vitro*.

Le raisonnement pris en compte pour le tri des résumés pour chacun des mots clés peut être consulté en **Annexe 2**.

3.1 .Données de toxicocinétique

Les mots retardateur de flamme (RFB) sur la base de données Scopus fait référence à 58 articles référencés sur la période 2010-2015 lorsqu'on le combine aux mots "Pharmacokinetic" ou "Toxicokinetic" dans le titre, l'abstract et les mots clés.

Pour le peu de temps qui est imparti et pour s'assurer d'orienter le prochain groupe de travail, une description générale dans ce chapitre est faite.

Les données disponibles concernant la cinétique des RFB restent très sporadiques, malgré quelques travaux récents qui ont montré que les PBDE pouvaient être métabolisés par des systèmes cellulaires humains, ainsi que la présence des métabolites de PBDE dans divers fluides biologiques humains.

Les PBDE, quel que soit leur degré de bromation, semblent ainsi être absorbés et distribués vers différents organes notamment le foie, le tissu adipeux, les glandes surrénales et les ovaires, avec pour le déca-BDE une localisation tissulaire spécifique. Plusieurs métabolites, essentiellement issus de réactions de phase I, ont été identifiés chez différentes espèces. On retrouve de façon prédominante les métabolites qui sont suspectés être responsables des effets de perturbation endocrinienne des PBDE, en particulier sur le système thyroïdien. Ces études qui se sont intéressées aux métabolites des PBDE ont permis de préciser leur rôle dans la toxicité des PBDE. Les PBDE hydroxylés, notamment, semblent jouer un rôle, puisque ces composés sont capables, *in vitro*, de mimer l'effet des hormones thyroïdiennes en se fixant sur leur transporteur, et, ainsi, de perturber l'homéostasie de ces hormones. Les PBDE hydroxylés pourraient également moduler l'expression de certaines enzymes de métabolisation de phase I (CYPs), impliquées dans leur métabolisation.

L'HBCDD serait, selon les quelques études disponibles, absorbé et partiellement métabolisé avant d'être excrété.

Dans le cadre d'un travail de thèse financé par l'ANSES (Marteau, 2012) le métabolisme des RFB a été étudié, afin d'identifier d'éventuels métabolites biologiquement actifs qui pourraient ensuite être recherchés comme biomarqueurs d'exposition dans les fluides ou tissus biologiques humains.

PBDE

On retrouve quelques études sur le métabolisme des PBDE réalisées *in vitro* sur des systèmes cellulaires humains. Ces auteurs constatent que les PBDE peu bromés sont rapidement métabolisés, alors que les hautement bromés ne semblent pas l'être. Des études *in vivo* sont venues appuyer ces observations. Les PBDE faiblement bromés sont plus facilement métabolisés puisque 16 métabolites hydroxylés et 2 métabolites dihydroxylés ont été détectés chez des rats exposés à un mélange de sept tétra- à hepta-BDE (Malmberg *et al.*, 2005).

La figure suivante indique les principales voies de métabolisme des PBDE. Les molécules en encadré représentent les métabolites observés *in vitro* chez l'Homme. Il s'agit

essentiellement de métabolisme de phase I, menant à la formation de PBDE hydroxylés, de bromophénols ou de produits débromés. Un métabolisme de phase II est parfois observé avec la méthylation de la fonction hydroxyle et l'identification de métabolites conjugués (ceci fut rapportée par une seule équipe). Un autre phénomène a été observé par quelques auteurs, à savoir le réarrangement de groupements bromé en 1,2 au cours duquel un atome de brome migre sur un carbone adjacent. Il ne s'agirait pas d'une réaction enzymatique, mais d'un processus induit par l'hydroxylation. Ce phénomène a déjà été observé pour d'autres composés de structure analogue tels que les PCB (Bergman *et al.*, 1994).

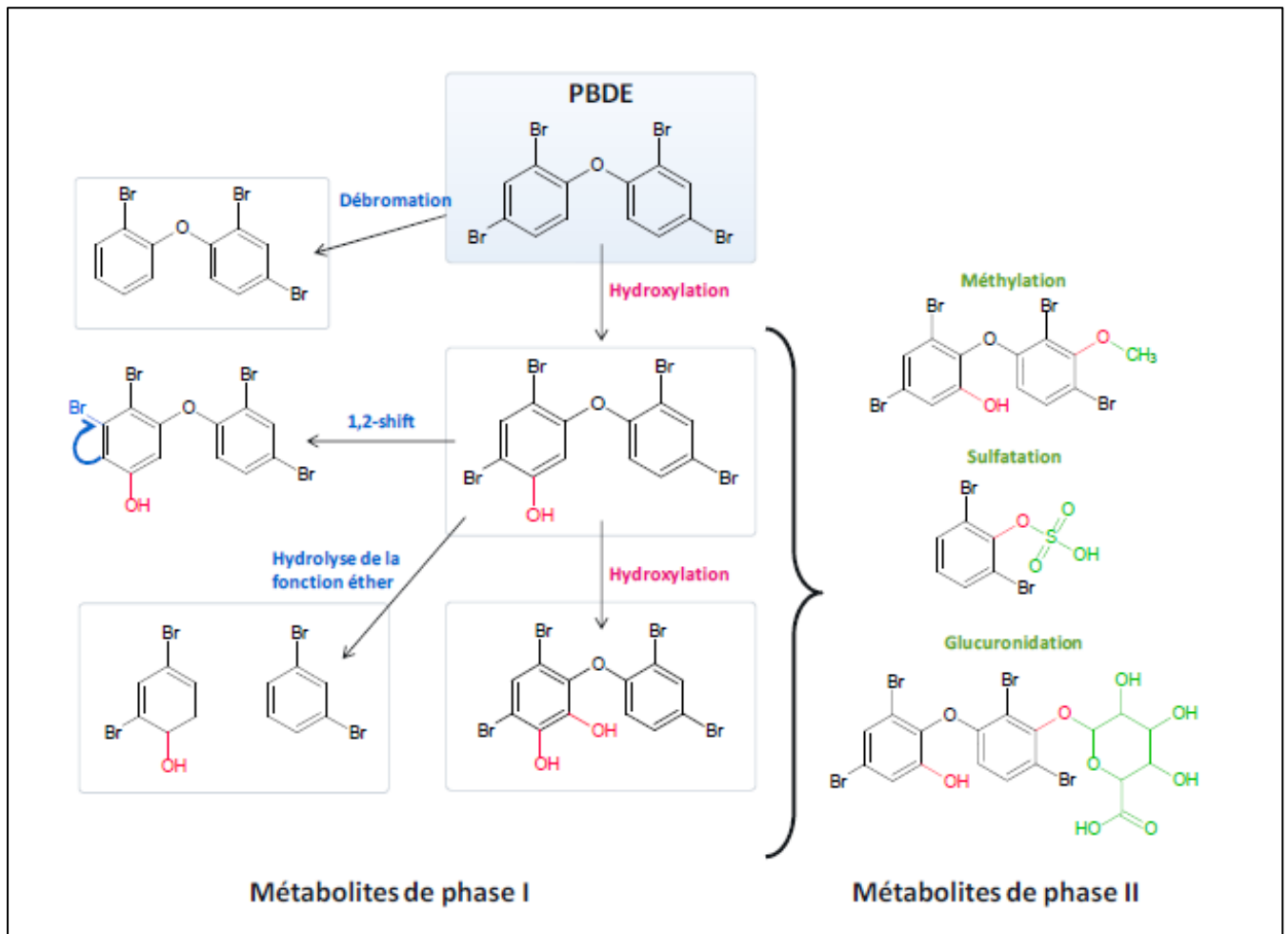


Figure 1. Voies métaboliques suivies par les PBDE chez l'Homme

Les données suivantes sont issues de la recherche bibliographique réalisée entre 2010 et 2015.

Une étude **chez l'Homme** concernant la toxicocinétique a été identifiée dans la recherche bibliographique.

Frederiksen *et al.* (2010) ont utilisé un système *ex vivo* de perfusion de placenta humain pour étudier la cinétique et l'étendue du transfert placentaire des BDE-47, BDE-99 et BDE-209 au cours de perfusions de quatre heures. Les PBDE ont été ajoutés à la circulation maternelle et contrôlés dans les compartiments maternel et fœtal. En outre, le cotylédon perfusé, le tissu placentaire environnant ainsi que de pré-perfusion du tissu placentaire et de sang de cordon ont été analysés. Le transfert placentaire du BDE-47 était plus rapide et plus étendu que pour le BDE-99. Les ratios fœtales-maternelle (FM-ratio) après quatre heures de perfusion étaient respectivement de 0,47 et 0,25 pour le BDE-47 et le BDE-99, tandis que le

coefficient de perméabilité indicative mesuré après 60 minutes de perfusion a été respectivement de $0,26 \text{ h}^{-1}$ et $0,10 \text{ h}^{-1}$. Le transport du BDE-209 semblait être limité. Ces différences entre les congénères peuvent être liées à leur degré de bromation. Une accumulation significative a été observée pour tous les congénères dans le cotylédon perfusé ainsi que dans le tissu autour du placenta.

TBBPA

Le TBBPA semble être absorbé et métabolisé dans le foie avant d'être excrété en partie sous forme conjuguée. Ces observations vont dans le sens inverse à ce qui fut rapporté antérieurement. Les premiers résultats contradictoires seraient dus au fait que le TBBPA est déconjugué dans l'intestin ou le colon. Le métabolisme du TBBPA ne serait pas seulement lié à des réactions de phase II, mais impliquerait également des processus oxydatifs conduisant à la formation de divers produits de clivage.

L'une des premières études consacrée au TBBPA montre de faibles taux d'absorption chez le rat : plus de 95% du TBBPA administré en une dose unique par voie orale est retrouvé sous forme de composé mère dans les fèces. Des études plus récentes montrent que l'absorption est en fait bien supérieure, mais que le principal produit excrété est le TBBPA composé mère. Une grande partie du TBBPA administré par voie orale passe par le foie où il peut y être métabolisé. Le TBBPA est en fait excrété en grande partie sous forme conjuguée (glucuronide ou sulfate), mais est ultérieurement déconjugué (Hakk *et al.*, 2000). Des travaux effectués à l'INRA ont confirmé ces résultats : le TBBPA est métabolisé dans le foie par les enzymes de phase II avant d'être excrété dans la bile. Par ailleurs, ces travaux ont indiqué que l'exposition foetale est faible, car le TBBPA et ses métabolites passent peu la barrière placentaire (Riu, 2006). Le fait que le TBBPA soit retrouvé en grande partie inchangé dans les fèces indique qu'il y a déconjugaison lors du passage dans l'intestin, possiblement par la flore intestinale.

HBCDD

L'HBCDD serait, selon les quelques études disponibles, absorbé et partiellement métabolisé avant d'être excrété.

Les deux premières études sur le métabolisme de l'HBCDD conduites dans les années 80 rapportent une excrétion de 70% en 72 heures *via* les fèces et 16% *via* l'urine, et une demi-vie de 2 heures environ chez le rat. Par la suite, deux autres études ont amené des conclusions différentes, montrant une absence d'excrétion urinaire et indiquant une excrétion fécale deux fois inférieure (Hakk and Letcher, 2003). Cette dernière étude a été confirmée lors d'une étude sur les cellules cérébrales chez le rat qui a montré que l'HBCDD reste présent plusieurs jours dans l'organisme suite à l'exposition (Reistad *et al.*, 2006).

L'absorption de l'HBCDD a par ailleurs été étudiée chez la truite arc-en-ciel. Les résultats indiquent une modification rapide et significative de la distribution des diastéréoisomères qui se stabilise ensuite, à savoir une augmentation des α - et β -HBCDD passant de 1,1 à 1,7% et de 4,2 à 11,9% respectivement. Les résultats concernant la distribution tissulaire des HBCDD indiquent une accumulation principalement hépatique 48 heures après l'ingestion, le cerveau et le muscle présentant des concentrations moindres (Haukås *et al.*, 2009).

Comme l'avait indiqué l'une des premières études sur l'HBCDD, celui-ci est métabolisé. Ceci a été confirmé par une étude sur des microsomes de foie de rats induits et de phoques, qui sont tout deux capables de métaboliser le β - et le γ -HBCDD mais apparemment pas l' α -HBCDD. Les spectres de masse des produits de métabolisation suggèrent qu'il y a hydroxylation des composés parents (Zegers *et al.*, 2005). En ce qui concerne les voies enzymatiques impliquées, une étude a montré que l'exposition à l'HBCDD mène, chez le rat, à l'induction de cytochromes P4502B et 3A ainsi que de PROD chez le mâle, impliqués dans

le métabolisme de phase I (Germer *et al.*, 2006). L'HBCDD a d'ailleurs un effet plus important que le penta-mix sur les CYP3A (Fery *et al.*, 2009).

Plusieurs études réalisées **chez l'animal** concernant la toxicocinétique ont été identifiées dans la recherche bibliographique.

Hakk *et al.* (2012) ont étudié le métabolisme de l' α - et γ -hexabromocyclododécane (HBCDD) chez des souris femelles adultes C57BL/6. De l' α - ou γ - [(14) C] HBCDD (3 mg.kg⁻¹ de poids corporel) a été administré par voie orale ; une collecte ultérieure de l'urine et des matières fécales a été réalisée pendant 4 jours consécutifs ; un groupe distinct de souris a été sacrifié 3 heures après exposition pour étudier les niveaux de métabolites des tissus. Les métabolites extractibles et non extractibles de l'HBCDD ont été quantifiés dans le foie, le sang, la graisse, le cerveau, la bile, l'urine et les matières fécales et caractérisés par LC/MS. Les métabolites identifiés différaient entre les deux stéréoisomères. Chez les souris exposées à l' α -HBCDD, quatre métabolites hydroxylés ont été détectés dans les extraits fécaux et l'un de ces métabolites a été constamment caractérisé dans le foie, le cerveau et les extraits de tissus adipeux. En revanche, les extraits fécaux de souris exposées au γ -HBCDD contenaient plusieurs isomères de monohydroxy-pentabromocyclododécane, dihydroxy-pentabromocyclododécane et dihydroxy-pentabromocyclododécadiène, tandis que dans les tissus hépatiques et adipeux extraits un seul métabolite monohydroxy-pentabromocyclododécane a été observé. Les deux stéréoisomères ont été transformés en métabolites formant des liaisons covalentes avec des protéines et/ou des lipides dans l'intestin (taux non extractible fécal élevé). La présence de produits métaboliques dans les tissus et *excreta* spécifiques après exposition *in vivo* aux deux principaux diastéréoisomères d'HBCDD soutient les études toxicocinétiques antérieures indiquant que ces deux stéréoisomères sont biologiquement distincts.

L'étude de Szabo *et al.* (2011) a été menée dans le but de caractériser complètement l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination de l' α -HBCDD suite à une exposition unique et répétée de souris femelles C57BL/6 en fonction de la dose, du temps et de la voie d'administration. Les résultats indiquent qu'~ 90% de la dose administrée (3 mg.kg⁻¹) a été absorbée après exposition par voie orale. Cette tendance était dictée par le caractère lipophile (les principaux dépôts étaient dans le tissu adipeux, le foie, les muscles et la peau) et dépendait de la dose avec une accumulation non linéaire à des doses plus élevées. L'élimination, à la fois dans l'ensemble du corps et des tissus isolés, était biphasique. La radioactivité mesurée de l' α -HBCDD montrait qu'il est excrété dans les fèces comme parent et métabolite, tandis que les urines ne contenaient que des métabolites. La présence de métabolites polaires dans le sang et l'urine a été un facteur majeur dans la détermination de la demi-vie initiale rapide dans le corps après une exposition unique par voie orale. Les demi-vies initiales étaient ~1-3 jours ; des demi-vies terminales de 17 jours ont été observées, ce qui suggère la possibilité d'une bioaccumulation d' α -HBCDD. Une étude répétée de 10 jours soutient le potentiel de bioaccumulation de l' α -HBCDD. La stéréoisomérisation précédemment observée après exposition au γ -HBCDD n'a pas été observée après exposition à l' α -HBCDD.

Zhang *et al.* (2011) ont examiné les effets de l'exposition *in utero* et par l'allaitement au BDE-209 sur l'absorption et la répartition des tissus du BDE-209 et de ses métabolites chez les rats. Des rats Sprague-Dawley gravides ont reçu des doses orales quotidiennes de 5 μ mol.kg⁻¹ de poids corporel de BDE-209 pendant la période de gestation et de lactation ou uniquement durant la période de lactation. Le BDE-209 et ses congénères débromés ont été analysés dans plusieurs tissus maternels, des petits et des tissus néonataux. La présence de PBDE et leurs profils cinétiques dans le sang maternel, le placenta et les fœtus/petits rats montrait que le BDE-209 et ses produits débromés peuvent être transférés de la mère aux foetus par exposition *in utero* ou par la lactation. Les Nona-BDE étaient les congénères

prédominants dans les tissus des rats analysés, le BDE-206 était le congénère le plus abondant alors que les BDE-197/204 étaient les principaux congénères des octa-BDE. Ensuite, les passages transplacentaires et lactationnels ont été comparés pour le BDE-209 et ses congénères débromés. Les concentrations de PBDE dans les tissus des petits exposés *in utero* et via la lactation étaient beaucoup plus élevées que celles du groupe exposé uniquement via la lactation. Le BDE-197/204 était le congénère débromé avec la différence la plus importante entre ces deux groupes ; le cerveau des petits était le tissu avec la différence la plus significative entre les niveaux de congénères débromés.

3.2 Données de biosurveillance

Principales conclusions de l'expertise collective de l'INSERM de 2011 :

« La génération de données précises et fiables d'exposition et d'imprégnation concernant les retardateurs de flamme bromés représente un challenge sur le plan analytique tant pour la préparation des échantillons biologiques (extraction et purification lourdes) que pour la mesure de ces molécules (la méthode de choix reste le couplage chromatographie gazeuse-spectrométrie de masse haute résolution). Il faut souligner la difficulté de gestion des contaminations environnementales, ce qui pourrait être à l'origine de disparités s'agissant de la distribution des niveaux de concentration mesurés sur un même jeu d'échantillons mais sur la base de méthodologies différentes. Les différentes études disponibles n'ayant pas toutes recherché les mêmes congénères PBDE, ceci rend délicate la comparaison des valeurs médianes d'exposition et d'imprégnation rapportées. De façon très générale, les valeurs d'exposition aux PBDE estimées sont de l'ordre de 50 à 150 ng/j. Pour l'adulte en population générale, ces valeurs apparaissent assez largement en deçà des valeurs des NOAEL estimées par rapport à des effets neurodéveloppementaux ou sur la spermatogenèse, mais restent préoccupantes pour des sous-populations particulièrement exposées (par exemple les forts consommateurs de poissons) et/ou à risque (foetus, nourrisson...).

La présence de plusieurs représentants de cette classe de polluants chimiques dans certains fluides et tissus biologiques humains est avérée. Dans le sérum ou le lait maternel, les teneurs observées sont de façon générale de l'ordre de quelques ng/g de lipides. Une tendance à une diminution des niveaux d'imprégnation a été rapportée pour les principaux congénères de type PBDE depuis le début des années 2000, correspondant à un arrêt de la production et de l'utilisation des deux mélanges industriels penta- et octa-BDE. En revanche, cette observation ne concerne pas le BDE-209, le HBCDD ou encore le TBBPA, les données disponibles concernant ces deux dernières substances sont extrêmement limitées voire inexistantes.

Si les quelques congénères PBDE les plus abondants ont fait l'objet de plusieurs études, il est à noter un manque très net de données concernant les composés qui par ailleurs restent ceux autorisés aujourd'hui en tant que retardateurs de flamme, incluant le déca-BDE, le HBCDD et le TBBPA, en termes d'exposition, d'imprégnation, de métabolisme, pharmacocinétique, et de lien avec certains paramètres cliniques. »

Description des populations françaises étudiées

Les données de biosurveillance relatives à l'exposition de la population française aux retardateurs de flamme polybromés concernent les deux cohortes ELFE et PELAGIE, composées toutes de femmes enceintes, recrutées sur la période allant de 2002 à 2007 (Tableau 3). La période de collecte des échantillons était différente pour chacune des cohortes. Les prélèvements ont en effet été réalisés au moment de l'accouchement (sang du

cordons) pour les femmes intégrées à la cohorte PELAGIE (à 6 à 19 semaines de grossesse), les prélèvements ont été réalisés également lors de l'accouchement dans le cadre de la cohorte ELFE. Ces cohortes ne sont constituées que de femmes enceintes, ce qui peut entraîner un biais dans la sélection des sujets.

Le détail des composés dosés, des matrices utilisées et de la période de prélèvement est disponible dans le tableau suivant :



Tableau 3. Présentation des cohortes françaises dans lesquelles l'exposition aux RFB a été évaluée

Cohorte	Année du recrutement	Région	RFB dosés	n	Population	Matrice	Période du prélèvement
PELAGIE	2002-2006	Ile et Vilaine, Finistère, Côtes d'Armor	BDE-28, BDE-99, BDE-153, BDE-183	331	Femmes enceintes	Sang cordon	A l'accouchement
ELFE	2007	Seine Saint- Denis et Rhones- Alpes	BDE-17, BDE-47, BDE-85, BDE-100 BDE-154, BDE-209 PBB HBCDD	277	Femmes venant d'accoucher	Sérum maternel	A l'accouchement

Données issues du rapport du volet périnatal du programme national de biosurveillance (date de publication à préciser)

Cohorte ELFE

Le dosage des PBDE a été réalisé par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse haute résolution. Le dosage des HBCDD a été réalisé par chromatographie liquide ultra performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem.

Les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) sont issues des réflexions du groupe COPHES (CONsortium to Perform Human biomonitoring on a European Scale). Afin de tenir compte de l'adiposité de l'individu pour lequel les dosages des retardateurs de flamme polybromés ont été réalisés, les résultats de dosage ont été ajustés sur les lipides sériques.

La distribution des niveaux d'imprégnation est décrite sous forme de percentiles (10, 25, 50, 75, 90, 95) et d'une moyenne géométrique (MG) avec les intervalles de confiance à 95% pour la moyenne géométrique et le percentile 95 (P95). Les résultats sont présentés pour la population totale et par tranche d'âge.

Les taux de quantification des RFB étaient variables selon les congénères (% > LOQ compris entre 0% et 99,6%). Les distributions (moyenne géométrique et son intervalle de confiance, les percentiles et la valeur maximale) des niveaux d'imprégnation des différents congénères de RFB mesurés dans le sérum maternel sont présentées dans le tableau 4.

	n	% > LOQ	MG	IC 95% MG	P10	P25	P50	P75	P90	P95	Max
PBDE											
BDE 17	277	0,0	NC*	[NA ; NA]	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
BDE 28	277	16,2	NC	[NA ; NA]	<LOD	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,05	0,07	5,18
BDE 47	277	99,6	0,24	[0,22 ; 0,26]	0,09	0,13	0,21	0,36	0,73	1,23	5,37
BDE 66	277	1,1	NC	[NA ; NA]	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,20
BDE 85	277	0,0	NC	[NA ; NA]	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOQ
BDE 99	277	48,4	NC	[NA ; NA]	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,09	0,18	0,32	3,36
BDE 100	277	71,8	0,08	[0,07 ; 0,09]	<LOQ	<LOQ	0,07	0,12	0,23	0,33	1,10
BDE 153	277	99,3	0,49	[0,45 ; 0,52]	0,29	0,36	0,46	0,64	0,88	1,13	18,30
BDE 154	277	1,1	NC	[NA ; NA]	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOQ	0,20
BDE 183	277	2,5	NC	[NA ; NA]	<LOD	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,50
BDE 209	277	89,9	1,46	[1,38 ; 1,55]	<LOQ	1,07	1,44	1,97	2,74	3,41	14,88
Σ ₇ PBDE	277	-	1,15	[1,08 ; 1,22]	0,663	0,817	1,04	1,47	2,17	2,78	19,74
Σ ₈ PBDE	277	-	2,78	[2,64 ; 2,92]	1,74	2,12	2,63	3,33	4,47	5,66	21,33
PBB											
BB 153	277	1,4	NC	[NA ; NA]	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOQ	1,31
HBCD											
α-HBCD	277	12,6	NC	[NA ; NA]	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOQ	0,77	1,49	115,97
β-HBCD	277	0,4	NC	[NA ; NA]	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	1,85
γ-HBCD	277	3,2	NC	[NA ; NA]	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOQ	50,24

*NC = non calculé

Tableau 4. Distributions des concentrations sériques des RFB chez les mères incluses, ajustées sur les lipides (en ng/g de lipides) (volet périnatal).

La moyenne géométrique de la concentration sérique totale des PBDE indicateurs (Σ₇PBDE) observée chez les 277 mères était égale à 1,15 ng/g de lipides. Le 95^{ème} percentile était égal à 2,78 ng/g de lipides.

La concentration moyenne de BDE-209 dans le sérum était égale à 1,46 ng/g de lipides et contribuait à plus de 50% du niveau d'imprégnation total par les PBDE (Σ₈PBDE = 2,78 ng/g de lipides).

Les autres principaux contributeurs de l'imprégnation par les PBDE étaient les congénères BDE-153 (> 15%), BDE-47 (< 10%) et BDE-100 (< 5%). Le diastéréoisomère α -HBCDD était néanmoins le plus quantifié.

Le profil d'imprégnation par les RFB des mères ayant fait l'objet d'un dosage a été étudié. Pour la majorité des PBDE, les concentrations des différents congénères étaient peu ou pas linéairement corrélées entre elles (< 30%), à l'exception des tri-BDE-28, penta-BDE-99, penta-BDE-100 et tetra-BDE-47 ; la plus forte corrélation était observée entre ces deux derniers congénères. Ces quatre congénères étaient également les biomarqueurs présentant les taux de censure les plus faibles, hormis le BDE-209 avec lequel aucune corrélation n'a été mise en évidence. Les autres RFB (α , β et γ -HBCDD et hexa-PBB-153) n'étaient pas corrélés entre eux, mais ces observations restent limitées notamment du fait de taux de censure élevés pour ces substances.

Divers facteurs sont susceptibles d'affecter les niveaux d'imprégnation par les RFB lipophiles et doivent être pris en compte pour expliquer les valeurs élevées observées chez les individus : l'âge, l'adiposité et la modification éventuelle de la masse corporelle au cours des mois précédant le prélèvement, le nombre d'allaitements antérieurs et leur durée pour les femmes concernées.

Le 75^{ème} percentile de la distribution de la concentration totale en tri-hepta-PBDE (Σ 7PBDE) était égal à 1,47 ng/g de lipides. Parmi les 70 mères dépassant cette valeur, plusieurs facteurs de risque connus dans la littérature ont été identifiés, tels que des consommations plus élevées de charcuteries, d'abats, de coquillages et crustacés, par rapport aux autres mères de l'échantillon. La consommation de tabac au cours de la grossesse avait tendance à être plus élevée chez les femmes les plus imprégnées par rapport aux autres mères (23% contre 17%). Par ailleurs, les femmes les plus imprégnées avaient plus souvent tendance à avoir perdu du poids dans l'année précédant la grossesse par rapport aux autres femmes de l'échantillon. Les femmes les plus imprégnées étaient plus âgées que les autres femmes de l'échantillon (31,0 ans contre 29,8 ans) et le taux de primiparité était plus faible (48% contre 52%), mais les différences observées étaient uniquement factuelles.

Les mères qui présentaient des niveaux d'imprégnation par le congénère α -HBCDD, supérieures à la limite de quantification (n = 35), avaient également des consommations de charcuteries et d'abats plus élevées que les autres mères de l'échantillon. Enfin, les niveaux élevés d'imprégnation par les PBDE et les HBCDD étaient corrélés puisque plus de 37% des mères présentant des concentrations quantifiables en α -HBCDD avaient une concentration en tri-hepta-PBDE supérieure au 75^{ème} percentile. La corrélation entre la concentration en BDE-209 et les autres PBDE et les HBCDD était moins forte (environ 25%).

Il existe plusieurs études, conduites en France et à l'étranger, relatives à l'imprégnation par les RFB des femmes enceintes ou en âge de procréer. Cependant, les données d'imprégnation par les HBCDD sont extrêmement limitées. Concernant les PBDE, les différentes études disponibles n'ont pas analysé les mêmes matrices ou recherché les mêmes congénères. Ces éléments rendent difficiles la comparaison des données d'imprégnation et l'identification des congénères qui contribuent le plus au niveau d'imprégnation total.

Comparaisons nationales

En France, une étude antérieure a permis d'estimer les niveaux d'imprégnation des femmes enceintes ou en âge de procréer par les RFB, en particulier par les PBDE :

-L'étude PELAGIE (Perturbateurs Endocriniens : étude longitudinale sur les anomalies de la grossesse, l'infertilité et l'enfance), conduite entre 2002 et 2006, a permis de donner une première estimation des niveaux d'imprégnation par les PBDE mesurés dans le sang de cordon chez 331 femmes enceintes résidant en région Bretagne. Parmi les huit congénères recherchés (BDE-28, 47, 99, 100, 153, 154, 183), seul le BDE-209 a pu être quantifié dans cette étude (% > LOQ = 32,3%) à un niveau moyen de 12,6 ng/g de lipides. Le taux de censure plus important observé dans cette étude par rapport au volet périnatal pourrait s'expliquer par la différence de concentrations en PBDE entre le sérum maternel et le sang du cordon, rapportée dans plusieurs études. Ainsi, compte tenu du faible taux de lipides dans le sang du cordon, les concentrations en congénères tri-hepta- BDE sont environ cinq fois plus faibles que celles mesurées dans le sérum maternel. A l'inverse, le BDE-209 est retrouvé à des niveaux plus élevés dans le sang du cordon par rapport au sérum maternel.

-Une seconde étude conduite entre 2003 et 2005 auprès de 24 hommes et 24 femmes résidant dans la commune de Besançon, à proximité d'un incinérateur de déchets ménagers, a mis en évidence une concentration moyenne totale de la somme des BDE-47, 99, 100, 153 et 154, égale à 3,46 ng/g de lipides.

- Une étude conduite entre 2004 et 2006 auprès de mères ayant accouché par césarienne au sein du CHU de Toulouse, a permis d'estimer les niveaux d'imprégnation par les PBDE et les HBCDD à la fois dans le sérum maternel, le sang du cordon et le lait maternel. La concentration moyenne totale de la somme des PBDE indicateurs (Σ 7PBDE), mesurée dans 93 échantillons de sérum maternel, était de 2,15 ng/g de lipides. La concentration sérique moyenne en BDE-209 était égale à 9,47 ng/g de lipides. Dans le cadre de l'étude préliminaire, les HBCDD n'étaient pas quantifiés dans les échantillons de sérum maternel analysés (n = 23).

- En 2007, l'étude pilote du volet périnatal du programme national de biosurveillance a mesuré les RFB (PBDE, BB-153 et HBCDD) dans le lait maternel de 48 mères résidant en Ile-de-France et en région Rhône-Alpes. La moyenne géométrique de la somme des sept PBDE indicateurs (Σ 7PBDE) mesurés dans le lait maternel était égale à 2,07 ng/g de lipides. La concentration moyenne en BDE-209 dans le lait était égale à 0,28 ng/g de lipides. La concentration plus faible de BDE-209 observé dans l'étude pilote par rapport au volet périnatal pourrait s'expliquer par la différence de matrice analysée. En effet, compte tenu de sa faible accumulation dans les tissus adipeux, les concentrations en BDE-209 mesurées dans le lait maternel sont environ 25 fois plus faibles que celles mesurées dans le sérum maternel. En appliquant ce facteur, les niveaux de BDE-209 mesurés dans l'étude pilote du volet périnatal seraient équivalents à une concentration sérique égale à 7,09 ng/g de lipides. L'hexa-BB-153 était quantifié dans le lait maternel à un niveau moyen de 0,2 ng/g de lipides.

Parmi les HBCDD, le α -HBCDD était le congénère le plus quantifié (% > LOQ = 100%), suivi du γ -HBCDD (% > LOQ = 64,6%) et du β -HBCDD (% > LOQ = 16,7%).

Le profil qualitatif de la distribution des congénères de PBDE mesurés dans le cadre du volet périnatal était identique à celui observé dans les études françaises antérieures réalisées dans la même matrice (le BDE-209 étant le principal contributeur des niveaux d'imprégnation). Ce profil est cohérent avec les mesures environnementales réalisées dans l'air intérieur et pourrait s'expliquer par l'utilisation plus abondante en France du mélange industriel Deca-BDE, essentiellement composé de BDE-209. Le profil de distribution des

HBCDD était également identique avec celui observé dans le lait maternel, dans le cadre de l'étude pilote du volet périnatal.

Conclusions du rapport du volet périnatal :

Les niveaux d'imprégnation par les RFB observés dans le cadre du volet périnatal du programme national de biosurveillance en France étaient du même ordre de grandeur, voire inférieurs à ceux mesurés dans les études françaises antérieures. Cette baisse pourrait s'expliquer par une diminution de l'exposition depuis les années 2000, suite à la mise en place de restrictions concernant l'utilisation de certains RFB, en particulier pour les PBB qui ne sont plus produits, ni utilisés en Europe. Cette diminution était particulièrement marquée pour le BDE-209 dont les restrictions d'usage ont été mises en place en 2008, à la suite des précédentes études réalisées en France. Compte tenu du nombre limité de données d'imprégnation disponibles pour les HBCDD, il n'a pas été possible de constater une éventuelle tendance séculaire en France des niveaux d'imprégnation pour cette famille de RFB.

Les niveaux d'imprégnation par les RFB observés dans le cadre du volet périnatal du programme national de biosurveillance en France étaient du même ordre de grandeur voire inférieurs à ceux retrouvés dans les études antérieures conduites en Europe, à l'exception du Royaume-Uni. Les concentrations en tri-hepta-BDE ($\Sigma 7$ PBDE) observées dans le volet périnatal étaient environ dix fois plus faibles à celles mesurées aux Etats-Unis et au Canada dans le sérum maternel. Ce constat est cohérent avec l'utilisation plus abondante des retardateurs de flamme bromés outre-Atlantique et en Angleterre du fait de politiques de sécurité incendie différentes.

Le profil qualitatif de la distribution des congénères de PBDE mesurés dans le volet périnatal du programme national de biosurveillance en France (BDE-209 > BDE-153 > BDE-47) était identique à celui observé dans les études européennes antérieures, à l'exception de celles conduites en Espagne et en Norvège dans lesquelles le principal contributeur de l'imprégnation était le congénère BDE-153, lipophile. Cette différence pourrait s'expliquer par une consommation plus importante de poissons dans ces deux pays par rapport aux autres pays européens; or la consommation de poissons est l'une des principales sources d'exposition aux PBDE lipophiles et persistants (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture).

Comparaison avec les études réalisées à l'étranger

Une dizaine d'études conduites en Europe et aux Etats-Unis ont mesuré les niveaux d'imprégnation des femmes enceintes ou en âge de procréer par les RFB. Toutes n'ont cependant pas recherché les mêmes familles et congénères et n'ont pas analysé les mêmes matrices (sérum maternel, sang du cordon, lait maternel). Ainsi, pour le cas particulier du BDE-209, compte tenu des différences importantes mises en évidence entre les concentrations mesurées dans le sérum maternel et le lait maternel, seules les études disponibles chez les femmes enceintes ou en âge de procréer réalisées dans le sang (sérum maternel et sang du cordon) ont été comparées. Les résultats sont synthétisés dans la figure 4.

En Suède, une première étude menée à Uppsala entre 1996 et 2010, a permis de mesurer les niveaux d'imprégnation par les BDE-47, 99, 100 et 153 dans le lait maternel de 364 mères primipares. La concentration moyenne totale de la somme de ces congénères était de 3,1 ng/g de lipides. Le BDE-47 était le principal contributeur de ce niveau d'imprégnation, suivi des BDE-153 et 99. Une seconde étude, conduite entre 2005 et 2006, a mesuré les concentrations en BDE-17, 28, 47, 66, 85, 99, 100, 153, 154 et 209 dans le sérum de 10

mères suédoises. Les concentrations médianes (med) de la somme des congénères tri-hepta-BDE et du BDE-209 étaient respectivement de 4,29 ng/g de lipides et 3,17 ng/g de lipides. Les principaux contributeurs de l'imprégnation étaient, par ordre décroissant, le BDE-209, 47, 153 et 99.

En Norvège, dans le cadre de la cohorte mère-enfant HUMIS (Norwegian Human milk study) conduite entre 2003 et 2005, les BDE-28, 47, 85, 99, 100, 153, 154, 183 et 209, ainsi que les HBCDD ont été mesurés dans le lait maternel de 393 mères. Le niveau d'imprégnation moyen pour la somme des tri-hepta-BDE était de 3,4 ng/g lipides et la somme des α , β et γ -HBCDD était égale à 1,7 ng/g de lipides.

A la même période, en Belgique, une étude conduite auprès de 735 mères, a mesuré les concentrations en PBDE et HBCDD dans des échantillons poolés de lait maternel d'une part, et de sang du cordon d'autre part. Les niveaux moyens observés étaient de 3,0 ng/g de lipides pour la somme des tri-hepta-BDE, de 0,6 ng/g de lipides pour la somme des HBCDD mesurés dans le lait maternel et de 2,1 ng/g de lipides pour le BDE-209 mesuré dans le sang du cordon.

En Espagne, dans le cadre de la cohorte mère-enfant INMA (*Infancia y Medio Ambiente*) conduite entre 2004 et 2008 auprès de 277 mères, les concentrations en BDE-47, 99, 153 et 209 ont été mesurées dans le sérum maternel. La concentration moyenne de la somme des PBDE recherchés était de 11 ng/g de lipides, avec une concentration moyenne en BDE-209 de 3,10 ng/g de lipides. Les principaux contributeurs de l'imprégnation étaient les congénères BDE-153, 209, 47 et 99.

Au Danemark, en 2007, les tri-hexa-BDE et l'hexa-BB-153 ont été mesurés dans le sérum maternel prélevé chez 51 mères au moment de l'accouchement, à des concentrations médianes respectivement égales à 1,77 ng/g de lipides et 0,18 ng/g de lipides. La concentration en BDE-209 mesurée chez un sous-échantillon de sujets ($n = 12$) était égale à 1,71 ng/g de lipides. Le BDE-209 était le principal contributeur du niveau d'imprégnation chez les sujets pour lesquels ce congénère a pu être mesuré (environ 50% du niveau d'imprégnation).

Enfin, au Royaume-Uni, deux études réalisées entre 2011-2012 ont mesuré dans le lait maternel les tri-hepta-BDE, le BDE-209 et l'hexa-BB-153 d'une part, et la somme des HBCDD d'autre part. Les niveaux d'imprégnation observés au Royaume-Uni étaient supérieurs à ceux rencontrés dans les autres études européennes.

Aux Etats-Unis, plusieurs études ont permis de mesurer les tri-hepta-PBDE dans le sérum de femmes enceintes et ont mis en évidence des niveaux compris entre 15,2 et 39,4 ng/g de lipides. Une seule étude, conduite entre 2009 et 2010 auprès de 316 mères a permis d'estimer le niveau d'imprégnation par le BDE-209 dans le sérum maternel (médiane = 4,04 ng/g de lipides) et par l'hexa-BB-153 (moyenne = 0,35 ng/g de lipides). Dans cette étude, le BDE-209 était le principal contributeur de l'imprégnation par les PBDE, suivi des BDE-47, 153, 99 et 100.

Au Canada, deux études réalisées entre 2004-2005 et 2007-2008 ont permis d'estimer les niveaux d'imprégnation par les tri-hepta-BDE dans le sérum de femmes au cours de leur grossesse. Les niveaux observés étaient du même ordre de grandeur que ceux mesurés aux Etats-Unis (niveaux compris entre 30,9 et 49,5 ng/g de lipides).

Aucune étude disponible au Canada n'a mesuré le congénère BDE-209, l'hexa-BB-153 et les HBCDD chez les femmes enceintes.

Aux Etats-Unis et au Canada, le principal contributeur de l'exposition aux PBDE est le BDE-47 ; néanmoins peu d'études ont mesuré les concentrations en BDE-209. Cette différence par rapport à l'Europe pourrait s'expliquer par l'utilisation de mélanges commerciaux différentes, puisque le mélange Penta-BDE utilisé en Europe jusqu'en 2003 contenait davantage de BDE-153 par rapport au BDE-47.

Pays/étude	Année	Population (région)	N	Matrice	Moyenne (ng/g de lipides)
Σ7PBDE					
Volet périnatal	2011	Femmes à l'accouchement	277	Sérum	MG = 1,15
France [2;6]	2002-2006	Femmes à l'accouchement	331	Sang du	MG = NC
France [3]	2003-2005	Femmes adultes (Besançon)	48	Sérum	MG = 3,46*
France [1]	2004-2006	Femmes à l'accouchement	91	Sérum	MG = 2,15
France [4]	2007	Femmes allaitantes (Ile-de-Rhône-Alpes)	48	Lait maternel	MG = 2,07
Norvège [7]	2003-2005	Femmes allaitantes	393	Lait maternel	MG = 3,40
Belgique [8]	2006	Femmes allaitantes	22 pools	Lait maternel	Med = 3,00
Suède [9]	2005-2006	Femmes à l'accouchement	10	Sérum	Med = 4,31*
Danemark	2007	Femmes à l'accouchement	51	Sérum	Med = 1,77
Suède [11]	1996-2010	Femmes allaitantes	364	Lait maternel	MG = 3,10**
Angleterre	2011-2012	Femmes allaitantes	6	Lait maternel	med = 4,76
Etats-Unis	2003-2006	Femmes enceintes (16-26ème	175	Sérum	MG = 39,40
Etats-Unis	2008-2010	Femmes enceintes (> 34ème	140	Sérum	MG = 36,90*
Etats-Unis	2009-2010	Femmes enceintes (< 20ème	316	Sérum	med = 15,20
Canada [16]	2004-2005	Femmes enceintes (24-28ème	97	Sérum	MG = 49,53
Canada [17]	2007-2008	Femmes enceintes (< 20ème	380	Sérum	MG = 30,92*
Deca-BDE-209					
Volet périnatal	2011	Femmes à l'accouchement	277	Sérum	MG = 1,46
France [2]	2002-2006	Femmes à l'accouchement	331	Sang du	MG = 12,6
France [1]	2004-2006	Femmes à l'accouchement	91	Sérum	MG = 9,47
France [4]	2007	Femmes allaitantes (Ile-de-France, Rhône-Alpes)	48	Lait maternel	MG = 0,28 MG = 7,09††
Espagne [18]	2004-2008	Femmes enceintes (10-13ème	277	Sérum	MG = 3,10
Belgique [8]	2002-2003	Femmes à l'accouchement	8 pools	Sang du	med = 2,10
Suède [9]	2005-2006	Femmes à l'accouchement	10	Sérum	Med = 3,17
Danemark	2007	Femmes à l'accouchement	51	Sérum	med = 1,71
Etats-Unis	2009-2010	Femmes enceintes (< 20ème	316	Sérum	med = 4,04

Tableau 5. Comparaison des concentrations sériques (réelles ou estimées) moyennes en PBDE (en ng/g de lipides) observées chez les femmes enceintes ou en âge de procréer en France et à l'étranger

NC = Non calculé

* Somme des cinq congénères BDE-47, 99, 100, 153 et 154

** Somme des congénères BDE-47, 99, 100, 153

† SG = semaine gestationnelle

†† Estimation du niveau d'imprégnation équivalent dans le sérum, d'après Mannetje et al., 2012

Tableau 6. Comparaison des concentrations sériques moyennes en HBCDD (en ng/g de lipides) observées chez les femmes enceintes ou en âge de procréer en France et à l'étranger (Volet périnatal)

Pays/étude de dosage	Année	Population (région)	N	Matrice de dosage	Moyenne (ng/g de lipides)
ΣHBCDD					
France volet périnatal	2011	Femmes à l'accouchement	277	sérum	NC
France [2]	2002-2006	Femmes à l'accouchement (Bretagne)	331	Sang de cordon	NC
France [1]	2004-2006	Femmes à l'accouchement (Toulouse)	91	Sérum	NC
France [4]	2007	Femmes allaitantes (Ile-de-France, rhone-Alpes)	48	Lait maternel	MG = 1,62
Norvège [7]	2003-2005	Femmes allaitantes	393	Lait maternel	MG = 1,70
Royaume-Uni [11;19]		Femmes allaitantes	34	Lait maternel	MG = 5,95
Belgique [8]	2006	Femmes allaitantes	22 pools	Lait maternel	Med = 0,60

Bibliographie :

- [1] Antignac JP, Cariou R, Zalko D, Berrebi A, Cravedi JP, Maume D, et al. Exposure assessment of French women and their newborn to brominated flame retardants : determination of tri- to decapolybromodiphenylethers (PBDE) in maternal adipose tissue, serum, breast milk and cord serum. Environ Pollut 2009 ; 157(1) : 164-73.
- [2] Chevrier C, Warembourg C, Gaudreau E, Monfort C, Le BA, Guldner L, et al. Organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls, seafood consumption, and time-to-pregnancy. Epidemiology 2013 ; 24(2) : 251-60.
- [3] Basseur C, Pirard C, Scholl G, De PE, Viel JF, Shen L, et al. Levels of dechloranes and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in human serum from France. Environ Int 2014 ; 65 : 33-40.
- [4] Vandentorren S , Guldner L , Oleko A , Bidondo ML , Saoudi A , Fillol C , et al. Dosage des biomarqueurs en maternité dans le cadre de l'enquête pilote Elfe (Etude longitudinale française depuis l'enfance), octobre 2007. France : Production scientifique InVS ; 2013. 47 p.
- [5] Anses. Rapport d'expertise collective : Evaluation des risques liés à l'exposition aux retardateurs de flamme dans les meubles rembourrés - Partie 1 : Efficacité contre le risque d'incendie des retardateurs de flamme dans les meubles rembourrés. Maisons-Alfort : Agence nationale de sécurité sanitaire, alimentation, environnement, travail; 2014.
- [6] Frery N , Deloraine A , Zeghnoun A , Rouviere F , Cordier S , Bard D. Étude sur les dioxines et les furanes dans le lait maternel en France. Saint-Maurice : Institut de veille sanitaire; 2000. 175 p.
- [7] Thomsen C, Stigum H, Froshaug M, Broadwell SL, Becher G, Eggesbo M. Determinants of brominated flame retardants in breast milk from a large scale Norwegian study. Environ Int 2010 ; 36(1) : 68-74.

- [8] Roosens L, D'Hollander W, Bervoets L, Reynders H, Van CK, Cornelis C, et al. Brominated flame retardants and perfluorinated chemicals, two groups of persistent contaminants in Belgian human blood and milk. *Environ Pollut* 2010;158(8) : 2546-52.
- [9] Jakobsson K, Fang J, Athanasiadou M, Rignell-Hydbom A, Bergman A. Polybrominated diphenyl ethers in maternal serum, umbilical cord serum, colostrum and mature breast milk. Insights from a pilot study and the literature. *Environ Int* 2012 ; 47 : 121-30.
- [10] Frederiksen M, Thomsen C, Froshaug M, Vorkamp K, Thomsen M, Becher G, et al. Polybrominated diphenyl ethers in paired samples of maternal and umbilical cord blood plasma and associations with house dust in a Danish cohort. *Int J Hyg Environ Health* 2010 ; 213(4) : 233-42.
- [11] Lignell S, Aune M, Darnerud PO, Hanberg A, Larsson SC, Glynn A. Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) may influence birth weight among infants in a Swedish cohort with background exposure : a cross-sectional study. *Environ Health* 2013 ; 12 : 44.
- [12] Bramwell L, Fernandes A, Rose M, Harrad S, Pless-Mullooli T. PBDEs and PBBs in human serum and breast milk from cohabiting UK couples. *Chemosphere* 2014 ; 116 : 67-74. Volet périnatal du programme national de biosurveillance - Résultats descriptifs des niveaux d'imprégnation RFB 24
- [13] Braun JM, Kalkbrenner AE, Just AC, Yolton K, Calafat AM, Sjodin A, et al. Gestational exposure to endocrine-disrupting chemicals and reciprocal social, repetitive, and stereotypic behaviors in 4- and 5-year-old children : the HOME study. *Environ Health Perspect* 2014 ; 122(5) : 513-20.
- [14] Buttke DE, Wolkin A, Stapleton HM, Miranda ML. Associations between serum levels of polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants and environmental and behavioral factors in pregnant women. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2013 ; 23(2) : 176-82.
- [15] Horton MK, Bousleiman S, Jones R, Sjodin A, Liu X, Whyatt R, et al. Predictors of serum concentrations of polybrominated flame retardants among healthy pregnant women in an urban environment : a cross-sectional study. *Environ Health* 2013 ; 12 : 23.
- [16] Foster WG, Gregorovich S, Morrison KM, Atkinson SA, Kubwabo C, Stewart B, et al. Human maternal and umbilical cord blood concentrations of polybrominated diphenyl ethers. *Chemosphere* 2011 ; 84(10) : 1301-9.
- [17] Abdelouahab N, Langlois MF, Lavoie L, Corbin F, Pasquier JC, Takser L. Maternal and cord-blood thyroid hormone levels and exposure to polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls during early pregnancy. *Am J Epidemiol* 2013 ; 178(5) : 701-13.
- [18] Vizcaino E, Grimalt JO, Glomstad B, Fernandez-Somoano A, Tardon A. Gestational weight gain and exposure of newborns to persistent organic pollutants. *Environ Health Perspect* 2014 ; 122(8) : 873-9.
- [19] Abdallah MA, Harrad S. Tetrabromobisphenol-A, hexabromocyclododecane and its degradation products in UK human milk : relationship to external exposure. *Environ Int* 2011 ; 37(2) : 443-8.

Les données suivantes sont issues de la recherche bibliographique réalisée entre 2010 et 2015 avec le mot clé « biomonitoring ».

Etude réalisée en France

Brasseur *et al.* (2014) ont évalué l'exposition humaine aux Dechloranes en France en dosant et comparant les taux de Déchlorane Plus (DP), Dechloranes (Dec) 602, 603 et 604, chlordène Plus (CP) et Mirex aux taux de BDE-47, 99, 100, 153 et 154 dans 48 échantillons de sérum prélevés entre 2003 et 2005. Les BDE-47 et BDE-153 ont été les principaux congénères avec des niveaux moyens respectifs de $2,06 \pm 1.80$ ng/g et $1,39 \pm 0.97$ ng/g de poids corporel. Les niveaux moyens de Σ PBDE ($4,32 \pm 2.99$ ng/g de lipides) étaient dans la gamme des niveaux d'Europe occidentale, mais inférieurs aux niveaux moyens Σ 5 dechlorane ($6,24 \pm 4.16$ ng/g de lipides).

Etudes réalisées dans des pays de l'Union européenne

L'étude de Darnerud *et al.* (2015) a mesuré pour la première fois en Suède les taux sériques maternels de BDE-209, d'autres congénères de PBDE plus fréquents et d'HBCDD et leur évolution. Dans une étude en cours sur les POP à Uppsala (POPUP), des échantillons de sérum (N = 413) de mères primipares de 1996 à 2010 ont été utilisés. Une mutualisation des échantillons individuels (5-25 personnes/groupe, env. 3 groupes/an) a donné lieu à la mise en commun de 36 échantillons pour l'analyse des PBDE/HBCDD sur GC-LRMS. En outre, la corrélation entre les niveaux de PBDE et d'HBCDD sérum/lait dans 30 échantillons appariés de mères a été étudiée en 2010. Le niveau de BDE-209 (1.3 ng/g de lipides) sérique moyen était le plus élevé, suivi par le BDE-47 et le BDE-153. Il n'y avait aucune tendance temporelle significative pour le BDE-209 au cours de l'étude, alors que les niveaux de BDE-47, BDE-99, BDE-100 et de HBCDD ont diminué de manière significative de 1996 à 2010. Une tendance significative à la hausse a été observée pour le BDE-153. Les rapports de PBDE sérum/lait ont varié de 0,83 à 17, avec le quotient le plus élevé pour le BDE-209. Les corrélations entre les niveaux sériques et de lait maternel de congénères tétra à hexa-bromé étaient généralement forte ($r = 0,83-0,97$), mais plus faible pour le BDE-183 ($r = 0,57$) et BDE-209 ($r = 0,38$). Les niveaux sériques décroissants de certains composés montrent que les expositions ont diminué après la limitation de la production et de l'utilisation de certaines de ces substances. L'absence de tendance temporelle du BDE-209 suggère que l'exposition humaine à ce congénère en Suède a été stable pendant plus d'une décennie.

Une autre étude suédoise (Sahlstrom *et al.*, 2014) a mesuré les Tri-déca-BDE et 21 autres retardateurs de flamme dans des échantillons de sérum appariés de 24 mères et leurs bébés (11-15 mois). Les concentrations médianes des différents PBDE allaient de 0,036 à 0,95 ng/g de lipides chez les mères et de 0,057 à 1,5 ng/g de lipides chez les jeunes enfants. Le BDE-209 a été détecté dans tous les échantillons (sauf un). Le BDE-153 était le congénère prédominant chez les mères ; chez les bébés, il s'agissait du BDE-209. Les niveaux de BDE-47, 100, 207, 208 et 209 chez les bébés étaient significativement plus élevés que ceux de leurs mères. Cette étude rapporte également des concentrations d' α -HBCDD dans le sérum SRM. Le manque de corrélation entre les échantillons sériques appariés indique différentes voies d'exposition pour l'octa-déca-BDE chez les mères au contraire des bébés. Les corrélations par congénère dans les cohortes mère/enfant suggèrent différentes voies d'exposition prédominante : l'alimentation pour le tétra-nona-BDE pour les mères, l'allaitement pour les tétra-hexa-BDE et la poussière pour les octa-déca-BDE chez les bébés.

Lenters *et al.* (2013) ont mesuré les concentrations sériques de retardateurs de flamme bromés chez des hommes au Groenland, en Pologne et en Ukraine. 299 échantillons sériques d'hommes entre 19 et 50 ans ont été analysés pour le BDE-28, 47, 99, 100, 153, 154 et 183 entre 2002 et 2004. Les BDE-47 et BDE-153 ont été détectés dans plus de 95% des échantillons des trois populations. Tous les autres congénères, en dehors du BDE-154, ont été détectés dans plus de 70% des échantillons en provenance du Groenland ; les fréquences de détection les plus basses ont été observées dans les échantillons polonais et ukrainiens. Les concentrations de congénères individuels étaient de 2,7 à 15 fois plus élevées au Groenland par rapport à la Pologne et à l'Ukraine. Les concentrations moyennes de la somme des PBDE les plus abondants du mélange commercial Penta-BDE (BDE-47, 99, 100, 153 et 154) ont été respectivement de 6,1 ; 1,7 et 0.87 ng/g de lipides chez les groenlandais, les polonais et les ukrainiens. En outre, les différences géographiques significatives des concentrations RFB ont été observées au sein du Groenland. L'analyse a révélé des groupements distincts d'échantillons par pays d'origine. Les associations entre Σ PBDEs et l'âge étaient inconstantes.

En Belgique également, Kicinski *et al.* (2012), dans le cadre d'un programme de biosurveillance, ont évalué les relations entre fonction neurocomportementale et taux sériques des congénères 47, 99, 100, 153, 209 de PBDE, d'HBCDD et de TBBPA dans un groupe d'élèves du secondaire (515 adolescents (13,6 - 17 ans). Après ajustement, les taux sériques au-dessus du niveau de quantification ont été associés à une diminution moyenne du niveau de FT3 de 0,18 pg/ml (IC_{95%} [0,03 ; 0,34], p = 0,020) pour le PBDE-99 et de 0,15 pg/ml (IC_{95%} [0,004 ; 0,29], p = 0,045) pour le PBDE-100, comparativement aux concentrations inférieures au niveau de quantification. Le taux de PBDE-47 au-dessus du niveau de quantification a été associé à une augmentation moyenne du taux de TSH de 10,1% (IC_{95%} [0,8 ; 20,2], p = 0,033), par rapport aux concentrations inférieures à la limite de dosage.

Link *et al.* (2012) ont utilisé les données de biosurveillance des PBDE du Bureau de santé de Baden-Württemberg depuis 2002 (Allemagne). Dans les études transversales répétées en hiver 2002/03 (n = 162), 2004/05 (n = 194), 2005/06 (n = 411) et 2008/09 (n = 770), des échantillons sériques d'élèves entre 9 et 11 ans ont été analysés. Les échantillons ont été regroupés selon les régions, le sexe et l'allaitement. Les taux de PBDE dans les échantillons groupés variaient entre 1,9 à 12,5 ng/g de lipides sanguins (somme de tous les PBDE). Les concentrations moyennes de PBDE, calculées pour les quatre périodes d'enquête étaient de 6,2 ng/g (2002/03) ; 5,4 ng/g (2004/05) ; 7,8 ng/g (2005/06) et 6,7 ng/g (2008/09). Alors que la concentration du BDE-209 a augmenté, la concentration des autres congénères (BDE-47, BDE-99, BDE-100, BDE-153, BDE-154, BDE-183) a légèrement diminué ou est restée stable. Des différences en lien avec le sexe et l'allaitement n'ont pas été mises en évidence. Les concentrations de PBDE chez les enfants sont au même niveau que chez les adultes, sans atteindre des niveaux critiques.

Croes *et al.* (2012) ont recruté 84 mères allaitantes en 2009-2010 en Belgique afin de mesurer, entre autres composés, les retardateurs de flamme bromés dans des échantillons individuels de lait et dans un échantillon regroupé de lait. Pour la plupart des polluants, les concentrations dans cette étude étaient inférieures ou comparables aux concentrations mesurées dans l'étude de lait humain OMS de 2006, sauf pour l'HBCDD (+ 153%). Les PBDE les moins bromés ont augmenté avec l'augmentation de l'IMC des mères (p = 0,01 pour les BDE-47, p = 0,02 pour les BDE-99 et p = 0,02 pour les BDE-100).

Vizcaino *et al.* (2011) ont mesuré les taux de PBDE dans le sérum et le sang de cordon de femmes enceintes et le sang de leurs nouveaux-nés (n = 174, Valence, Espagne). Les PBDE les plus abondants étaient les BDE-47, BDE-99, BDE-153, BDE-154 et BDE-209. La médiane des PBDE totaux était de 9,6 ng/g de lipides dans le sang du cordon (entre < LD et 140 ng/g de lipides) et de 9,6 ng/g de lipides dans le sérum maternel (entre < LD et 120 ng/g de lipides). Le BDE-47 était le congénère majoritaire dans les deux cas. Dans le sang de cordon les congénères les plus abondants étaient par ordre décroissant le BDE-47 > BDE-99 > BDE-209 > BDE-153 > BDE-154. Dans le sérum maternel, la distribution était similaire : BDE-47 > BDE-153 > BDE-154 > BDE-209 > BDE-99. La corrélation entre les concentrations par congénère dans le sang du cordon et dans le sérum maternel était importante. Les nouveaux-nés des zones rurales ont présenté des concentrations statistiquement significatives plus faibles que ceux des sites urbains, semi-urbains ou métropolitains.

Kalantzi *et al.* (2011) ont mesuré les concentrations sériques en PBDE et HBCDD de 61 individus en Grèce, entre Juin et Octobre 2007. 30 échantillons ont été prélevés parmi des employés informatiques, et 31 à partir d'une population témoin. Σ concentrations de (5) PBDE (de tri- à hexa-BDE) variait de 0,68 à 13,3 ng/g de lipides, avec une médiane de 1,07 ng/g de lipides. Ces concentrations sont à la limite inférieure de celles signalées dans d'autres pays. Les concentrations individuelles et Σ (5) de PBDE n'ont pas montré de

différence significative entre les deux groupes ($p > 0,05$), à l'exception du BDE-153 ($p = 0,033$). Le congénère prédominant était le BDE-153, suivi par les BDE-47, 100, 99, 183, 154 et 28. L'HBCDD a également été détecté dans 70% des échantillons. Le BDE-209 a été détecté dans 13% des échantillons, avec des concentrations allant de 1,18 à 19,1 ng/g de lipides, et une médiane de 2,94 ng/g de lipides. Aucun lien avec l'âge n'a été trouvé pour les PBDE.

Thomsen *et al.* (2010) ont analysé 393 échantillons de lait maternel de mères vivant dans diverses régions de la Norvège. Jusqu'à dix PBDE ont été mesurés dans tous les échantillons, l'hexabromocyclododécane (HBCDD) et le BDE-209 dans respectivement 310 et 46 échantillons. Les concentrations médianes de la somme des sept PBDE les plus importants (BDE-28, 47, 99, 100, 153, 154 et 183), BDE-209 et HBCDD étaient respectivement de 2,1 ; 0,32 et 0,86 ng/g de lipides. Ces concentrations sont comparables aux niveaux généralement observés dans les populations humaines en Europe. La distribution des fréquences était asymétrique. L'âge maternel, la parité, l'éducation, la cohabitation avec un employé électricien, et la ventilation ont été des facteurs significativement associés à certains retardateurs de flamme, bien que ces facteurs n'expliquent qu'une petite quantité de la variabilité ($R^{(2)}$ de 0,04 à 0,16). Le régime alimentaire des mères n'a pas d'influence sur les taux de PBDE et d'HBCDD du lait maternel et les niveaux HBCDD.

Etudes canadiennes

Ryan *et al.* (2014) ont recueilli des échantillons de lait humain de personnes résidant dans diverses provinces du Canada entre 1992 et 2005. Des échantillons dans un but de comparaison ont été recueillis auprès de résidents d'Austin, Texas, en 2002 et 2004. Plus de 300 échantillons de lait ont été analysés pour les retardateurs de flamme bromés (RFB), PBDE et HBCDD. Les valeurs canadiennes totales de PBDE dans les années 2002-2005 montrent des niveaux médians d'environ $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de lipides, valeur significativement plus élevée que dans les années 1980 et 1990. Des échantillons de lait provenant de donneurs inuits dans la région nord du Nunavik ont donné des concentrations de PBDE légèrement inférieures à celles des régions peuplées du sud du Québec. Des échantillons de lait provenant de l'Ontario contenaient des quantités légèrement plus faibles de PBDE que celles du Texas. Les niveaux d'HBCDD dans la plupart des échantillons de lait sont généralement de moins de 1 ppm de lipides du lait et dominés par l' α -isomère.

Zhou *et al.* (2014) ont examiné plusieurs retardateurs de flamme bromés émergents, dont le décabromodiphényléthane (DBDPE) et le BDE-153 dans des échantillons sériques ($n = 102$) appariés sur le lait maternel ($n = 105$), recueillis en 2008-2009 dans la région de Sherbrooke (Canada). La fréquence de détection du BDE-153 était supérieure à 55% dans les échantillons de sérum et de lait. Les concentrations médianes de BDE-153 sériques et dans le lait maternel étaient respectivement de 1,5 et 4,4 ng/g de lipides pour le BDE-153.

Rawn *et al.* (2014) ont recueilli des surplus de sérum à partir d'échantillons individuels, collectés entre 2007 et 2009 au cours du cycle 1 de l'étude CHMS (Canada). Des échantillons de sérum ont été classés par sexe et distribués par cinq groupes d'âge allant de 6 à 79 années. Près de 5000 échantillons (4583) de sérum ont été utilisés pour former 59 groupes. 23 éthers diphenyliques polybromés (PBDE) et les trois diastéréoisomères α -, β - et γ -HBCDD ont été dosés. Les PBDE ont été observés dans tous les échantillons testés ; les concentrations totales de PBDE variaient de 27 ng/g de lipides à 130 ng/g de lipides (moyenne géométrique [MG 46 ng/g de lipides]). Les concentrations Σ PBDE étaient significativement plus élevées dans les échantillons représentant le groupe de 6-11 ans (GM 65 ng/g de lipides) par rapport au groupe d'âge autour de 40 ans. Les concentrations sériques de PBDE dans la population générale canadienne étaient plus élevées que celles

en Europe et en Asie, mais un peu plus faible que celles observées aux États-Unis. Le PBDE-47 était le composé majoritaire de la Σ PBDE (MG : 22 ng/g de lipides). Les autres congénères majoritaires (concentrations) étaient dans l'ordre décroissant : BDE-153 [MG 9,4 ng/g lipidique] > 99 [MG 4,6 ng/g lipidique] \cong 100 [MG de 4,1 ng/g lipidique] > 209 [MG 1,1 ng/g lipides] et 183 [MG 0,42 ng/g lipidique]. Σ HBCDD a été détecté dans tous les échantillons analysés, bien que les concentrations mesurées aient été < 1 ng/g de lipides, en accord avec les concentrations mondiales. α -HBCDD a été le facteur principal des Σ HBCDD chez les Canadiens, bien que β - et γ -HBCDD aient été détectés respectivement dans 23% et 35% des échantillons. Aucune différence de concentration de Σ HBCDD n'a été associée à l'âge ou le sexe.

Turgeon *et al.* (2012) ont étudié l'exposition aux métaux toxiques et aux polluants organiques persistants (POP) de 155 enfants inuits (âge moyen 25,2 mois) au Nunavik (Canada). Des échantillons de sang ont été analysés pour déterminer les concentrations en certains composés, dont les PBDE. La moyenne géométrique en BDE-47 était de 184 ng/g de lipides. Les concentrations de PBDE étaient plus élevées que celles observées chez de nombreux enfants et adolescents à travers le monde, mais inférieures à celles rapportées dans certaines villes américaines.

L'étude de Siddique *et al.*, réalisée au Canada également (2012) a mesuré plusieurs contaminants dont certains congénères de PBDE dans 87 échantillons de lait maternel collectés dans deux villes canadiennes. Les concentrations de PBDE dans le lait maternel [moyenne (médiane), en ng/g de lipides] étaient de 10 (5,9) ; 4,1 (2,8) ; 3,0 (1,6) ; 5,12 (1,6) ; et 15 (ND) pour respectivement les BDE-47, BDE-99, BDE-100, BDE-153 et BDE-209] et étaient comparables à celles rapportées en Europe, aux États-Unis et en Chine.

Etudes réalisées aux États-Unis

Park *et al.* (2015), dans le cadre du programme de biosurveillance de l'État Californien, ont mené une étude chez 101 pompiers professionnellement exposés à des niveaux élevés de polluants organiques persistants, dont les PBDE. Malgré la baisse récemment rapportée des tendances de PBDE dans les Californiens, des niveaux élevés ont été mesurés dans le sérum des pompiers (les Σ 5PBDEs : médiane = 59,1 ng/g de lipides ; intervalle = [18,8 ; 714 ng/g de lipides]) par rapport à d'autres populations en Californie au cours de la même période. En outre, près d'un tiers des sujets avaient des taux sériques particulièrement élevés de BDE-209, en accord avec d'autres résultats récents chez les pompiers.

Turyk *et al.* (2010) ont comparé les niveaux des principaux congénères de BDE dans des archives d'échantillons de sang (1994-1995) prélevés à partir d'une cohorte de consommateurs fréquents et peu fréquents de poissons des Grands Lacs avec les niveaux sériques mesurés chez ces mêmes personnes en 2001-2003 et 2004-2005. Des augmentations statistiquement significatives ont été observées de 1994-1995 à 2001-2003 pour Σ PBDEs et BDE-47, 99 et 153 et de 1994-1995 à 2004-2005 pour Σ PBDE et BDE-99, 100 et 153 ; la Σ PBDEs et congénères de BDE n'ont pas changé de façon significative entre 2001-2003 et 2004-2005. Les taux de Σ PBDEs et BDE-47, 100, et 153 chez les hommes ont été modifiés par l'IMC, avec une augmentation plus importante chez les hommes ayant un IMC plus élevé. Les augmentations de BDE-153 étaient plus importantes chez les femmes, et les augmentations de BDE-100 chez les participants plus âgés. La répartition par congénère a été modifiée avec une augmentation significative de la proportion de BDE-153 par rapport au BDE-47 entre 2001- 2003 et 2004-2005.

Dunn *et al.* (2010) ont déterminé les concentrations de PBDE dans le lait maternel du New Hampshire et examiné les relations possibles entre les niveaux de PBDE dans le lait maternel et le stade de lactation, les caractéristiques maternelles, le milieu de vie et l'apport

alimentaire. 40 femmes ont fourni jusqu'à trois échantillons de lait maternel à la fin de leur premier, deuxième et troisième mois d'allaitement pour l'étude des variations des taux de PBDE. Les participantes ont rempli quatre questionnaires concernant le milieu de vie de la mère et des informations sur le régime alimentaire. Les Σ PBDE dans le lait maternel au cours de la période de collecte de 3 mois ont varié de 6,5 à 166,7 ng.g⁻¹ de lipides. La médiane à 3 mois était de 29,7 ng.g⁻¹. Le BDE-47 était le congénère prédominant, cependant, le BDE-153 prédominait dans 20% des échantillons des participantes. Les variations quotidiennes de Σ PBDE étaient négligeables ; il n'y avait pas de différence significative dans les concentrations de PBDE moyennes de mois en mois. Des associations positives ont été observées entre les taux de BDE-153 et l'âge, la consommation de graisses saturées post partum et l'environnement de la maison. Une association négative a été observée entre concentrations de PBDE et consommation de fruits au cours du troisième trimestre.

Lunder *et al.* (2010) ont émis l'hypothèse que les concentrations de PBDE étaient plus élevées chez les jeunes enfants que chez leurs mères. Les PBDE ont été dosés dans des échantillons de sang prélevés simultanément chez 20 mères et leurs enfants, âgés de 1,5 à 4 ans. Les échantillons ont été analysés pour 20 PBDE ; 11 ont été détectés. Σ PBDEs pour les enfants était généralement 2,8 fois plus élevée que pour les mères, avec des rapports moyens enfants/mères entre 2 et 4 pour chaque congénère. Dans 19 des 20 familles étudiées, les enfants présentaient des concentrations de Σ PBDE significativement plus élevées que leurs mères ($p < 0,01$) avec des différences de concentration pour cinq des PBDE. Le BDE-209 a été quantifié chez 13 enfants et 9 mères. D'autres études indiquent que les taux de PBDE ne sont pas élevés à la naissance, ce qui suggère que la vie précoce est une période intense de l'apport de PBDE.

Etude réalisée en Australie

Toms *et al.* (2012) ont mesuré les concentrations de fond et l'évolution des taux d' HBCDD à partir d'un échantillon représentatif de la population australienne et les ont comparées aux concentrations de PBDE sur une période de 16 ans. Des échantillons de lait maternel collectés en Australie 1993-2009, principalement chez des mères primipares, ont été regroupés en 12 groupes depuis 1993 (2 groupes) ; 2001 ; 2002/2003 (4 groupes) ; 2003/2004 ; 2006 ; 2007/2008 (2 groupes) ; et 2009. Les concentrations de Σ HBCDD allaient de non quantifié (nq) à 19 ng.g⁻¹ de lipides ; α -HBCDD et γ -HBCDD allaient respectivement de nq à 10 ng.g⁻¹ des lipides et nq à 9,2 ng.g⁻¹ lipide. Le β -HBCDD a été détecté dans un seul échantillon à 3,6 ng.g⁻¹ de lipides tandis que Σ (4) PBDE variait de 2,5 à 15,8 ng.g⁻¹ des lipides. Aucune tendance temporelle n'était apparente dans les concentrations d'HBCDD dans le lait humain prélevé en Australie de 1993 à 2009. En comparaison, les concentrations de PBDE dans le lait maternel montraient un pic autour de 2002/03 [moyenne Σ (4) PBDE = 9,6 ng.g⁻¹ de lipides) et 2003/04 (12,4 ng.g⁻¹ de lipides) suivies d'une diminution en 2007/08 (2,7 ng.g⁻¹) de lipides) et 2009 (2,6 ng.g⁻¹ de lipides]. Dans les échantillons de sérum de sang humain prélevés dans la population australienne, les concentrations de PBDE ne variaient pas beaucoup ($p = 0,441$) de 2002/03 à 2008/09.

Etudes réalisées en Chine

Dans l'étude de Li *et al.*, (2014) les concentrations (par g de lipides) de Σ HBCDD dans 80 échantillons de sérum provenant de résidents près d'une région source de production d'HBCDD ont été mesurées. Elles variaient de non décelable à 2702,5 ng.g⁻¹. La moyenne et les valeurs médianes étaient respectivement de 104,9 ng.g⁻¹ et 5,9 ng.g⁻¹. Le γ -HBCDD était l'isomère le plus abondant dans 42 échantillons, tandis que l' α -HBCDD était le plus abondant dans les 26 autres échantillons de sérum. Il n'y avait pas de différence significative de la concentration Σ HBCDD selon l'âge et le sexe. Dans cette étude, le taux d'anomalie

d'hormones thyroïdiennes des 80 résidents allait jusqu'à 33%. Le taux d'anomalies d'hormones thyroïdiennes des résidents pour lesquels l'HBCDD a été détecté dans le sérum était significativement plus élevé que ceux sans détection.

Dans l'étude de Yang *et al.* (2014), les concentrations de sept bisphénols, dont le tétrabromobisphénol A (TBBPA), ont été mesurées dans des échantillons d'urine humaine dans une cohorte de résidents vivant à proximité d'une usine de fabrication de bisphénol (BP) AF dans le sud de la Chine. Le TBBPA n'a pas été détecté.

Ding *et al.* (2011) ont exploré le niveau d'HBCDD dans le lait maternel humain à la délivrance de 48 femmes d'un hôpital de Shanghai, et estimé l'apport quotidien des nouveaux-nés dans le lait maternel. Les femmes ont été interrogées par questionnaires, et leurs échantillons de lait maternel ont été recueillis de septembre 2006 à avril 2007. Toutes les femmes n'avaient eu qu'une grossesse et ne présentaient ni hypertension, ni diabète, ni infection au VIH ou antécédents médicaux notables. L'apport quotidien des nouveaux-nés des trois diastéréoisomères dans le lait maternel a été estimé. La concentration totale d'HBCDD dans le lait maternel, détectée dans 79% des échantillons, allaient de 0,11 ng/g de lipides (LW) à 37,75 ng/g de lipides, avec une médiane à 1,42 ng/g lw. Le diastéréoisomère le plus abondant était l' α -HBCDD, détecté dans 77% des échantillons, avec une médiane de 1,24 ng/g de lipides ; il était suivi par l' γ -HBCDD et le β -HBCDD, détectés respectivement dans 13% et 17% des échantillons, dont les médianes étaient toutes deux sous la limite de détection. L'apport quotidien des nouveaux-nés du lait maternel variait de 0,71 ng.kg⁻¹ à 243,46 ng.kg⁻¹.

Chen *et al.* (2010) ont étudié les niveaux de PBDE dans le plasma des enfants de Dalian, en Chine, pour la première fois. Dix-sept PBDE (BDE-30, 28, 35, 37, 75, 47, 66, 100, 99, 116, 155, 154, 153, 183, 181, 190 et 209) dans 29 échantillons de plasma ont été mesurés. La concentration médiane de PBDE était de 31,61 ng.g⁻¹ de lipides. Le BDE-153 était le congénère dominant, suivi par les BDE-99, 47 et 183. La forte abondance du BDE-183 pourrait être expliquée par une consommation plus forte d'octa-BDE en Chine. Aucune différence significative n'a été observée selon le sexe ou l'âge. Les concentrations de PBDE dans le plasma des enfants étaient 9-30 fois plus élevées que celles des non professionnels exposés de Guangzhou, Chine du Sud et celles dans le lait maternel des adultes des autres villes de Chine, mais étaient de niveaux modérés par rapport à celles des enfants du monde entier.

Tableau 7. Synthèse des études de biosurveillance (recherche bibliographique 2010-2015)

Pays	Congénères recherchés	Année	Population	N	matrice	MG ou médiane
France	BDE-47, 99, 100, 153, 154	2003-2005		48	Sérum	MG BDE-47 : 2,06 ng/g de poids corporel
						MG BDE-153 : 1,39 ng/g de poids corporel
Suède	BDE-209	1993-2010	Femmes enceintes	36	Sérum	MG BDE-209 : 1,3 ng/g lipides
Groenland	Mélange penta-BDE (BDE-47, 99, 100, 153 et 154 majoritaires)	2002-2004	Hommes	299	Sérum	MG 6,1 ng/g de lipides
Pologne						MG 1,7 ng/g de lipides
Ukraine						MG 0,87 ng/g

						de lipides
Belgique	BDE-47, 99, 100, 153, 209, HBCDD et TBBPA		Elèves du secondaire	515	Sérum	
Allemagne	Sommes de tous les PBDE	2002-2003	Elèves entre 9 et 11 ans	162	Sérum	MG 6,2 ng/g de lipides sanguins
		2004-2005		194		MG 5,4 ng/g de lipides sanguins
		2005-2006		411		MG 7,8 ng/g de lipides sanguins
		2008-2009		770		MG 6,7 ng/g de lipides sanguins
Espagne	Somme des PBDE		Femmes enceintes /nouveaux-nés	174	Sérum et sang/sang	Médiane : de 9,6 ng/g de lipides dans le sang du cordon
						Médiane : 9,6 ng/g de lipides dans le sérum maternel
Grèce	PBDE et HBCDD	juin-octobre 2007	Employés informatiques et témoins	30 et 31	BDE-209 médiane	2,94 ng/g lipides
						Médiane : de tri à hexa-BDE : 1,07 ng/g lipides
Norvège	BDE-28, 47, 99, 100, 153, 154 et 183		Mères	393	lait maternel	
	BDE-209					Médiane : 0,32 ng/g de lipides
	HBCDD					Médiane : 0,86 ng/g de lipides
Canada	BDE-153	2008-2009		102	sérum lait maternel	Médiane: 1,5 ng/g de lipide (sérum) et 4,4 ng/g de lipides (lait maternel)
	23 PBDE et diastéréoisomères de l'HBCDD	2007-2009		4583	Sérum	PBDE MG: 46 ng/g de lipides MG BDE-47 : 22 ng/g de lipides BDE-153 : 9,4 ng/g lipides BDE-99 : 4,6 ng/g de lipides

						BDE-100 : 4,1 ng/g de lipides BDE-209 : 1,1 ng/g de lipides BDE-183 : 0,42 ng/g de lipides
Canada	?	?	Enfants inuits	155	Sérum	BDE-47 MG : 184ng/g de lipides
		2012	Pompiers exposés à plusieurs POP		Lait maternel	MG BDE-47 : 10 ng/g de lipides BDE-99 : 4,1 ng/g lipides BDE-100 : 3,0 ng/g de lipides BDE-153 : 5,12 ng/g de lipides BDE-209 : 15 ng/g de lipides
Californie	Somme de 5PBDE			101	Sérum	Médiane : 59,1 ng/g de lipides
New Hampshire	Somme PBDE				Lait maternel	Médiane : 29,7 ng/g de lipides
Chine	Somme HBCDD		Résidents près d'une source de production d'HBCDD	80	Sérum	Moyenne : 104,9 ng/g et médiane 5,9 ng/g
	HBCDD	sept 2006- avril 2007	Femmes enceintes	48	Lait maternel	Médiane : 1,42 ng/g de poids corporel
	BDE- 30,28,35,37,75,47,6 6,100,99,116,155,15 4,153,183,181,190 et 209		Enfants	29	Plasma	Médiane : 31,61 ng/g de lipides

Le mélange HBCDD a été recherché dans cinq études. Il reste toujours difficile d'identifier quels congénères de HBCDD ont été recherchés.

Le TBBPA n'a été recherché que dans une étude.

3.3 Effets sur les systèmes reproducteurs mâle et femelle issus des principales conclusions des expertises de l'Inserm (2011) et de l'EFSA

Les travaux de l'EFSA (EFSA, 2011) sur les retardateurs de flamme bromés (RFB) sont réalisés par le groupe scientifique de l'EFSA sur les contaminants de la chaîne alimentaire (groupe scientifique CONTAM) (cf. Annexe 4). Ce dernier a publié des conseils concernant la

surveillance des RFB dans l'alimentation humaine et animale et a évalué les risques possibles pour la santé humaine associés à la présence de RFB dans les denrées alimentaires.

Concernant les Éthers de diphenyle polybromé (PBDE) – huit PBDE ont été considérés d'intérêt majeur et des données de toxicité pertinentes étaient disponibles pour quatre d'entre eux (BDE-47, -99, -153 et -209). Les évaluations des risques se sont limitées à ces quatre substances, pour lesquelles l'approche dite des marges d'exposition (MoE) a été adoptée. Pour BDE-99, la MoE indique un problème potentiel pour la santé, eu égard à l'exposition alimentaire actuelle. Cela valait en particulier pour les jeunes enfants (âgés de 1 à 3 ans), bien que la présence d'un échantillon d'aliments de la catégorie «Aliments pour nourrissons et enfants en bas âge» avec une concentration élevée en BDE-99 ait pu conduire à une surestimation de l'exposition pour ce groupe d'âge particulier. Pour BDE-47, -153 et -209, il est peu probable que l'exposition alimentaire actuelle pose un problème pour la santé. De nombreux produits contenant des PBDE étant toujours utilisés, la surveillance des PBDE doit être poursuivie.

Concernant l'Hexabromocyclododécane (HBCDD) – l'exposition alimentaire actuelle aux HBCDD dans l'UE ne suscite pas d'inquiétude. En outre, il est peu probable qu'une exposition supplémentaire, en particulier des jeunes enfants, aux HBCDD via les poussières domestiques pose un problème pour la santé.

Concernant le Tétrabromobisphénol A (TBBPA) – l'exposition alimentaire actuelle au TBBPA dans l'UE ne suscite pas de préoccupations pour la santé. Aucune donnée relative à la présence de dérivés de TBBPA n'a été transmise à l'EFSA et aucune information sur leur toxicité n'a été relevée. Il n'a donc pas été possible de procéder à une évaluation des risques sur les dérivés de TBBPA.

Concernant les conclusions du rapport d'expertise collective de l'INSERM (2011) :

— Etudes épidémiologiques chez l'homme

L'expertise collective de l'Inserm conclut que les études épidémiologiques sont trop peu nombreuses pour conclure à un rôle possible des PBDE sur la santé reproductive de l'homme. Des études suggèrent des résultats préoccupants (cryptorchidie...) qui doivent être confirmés ou infirmés.

Il est difficile toutefois de distinguer le rôle des PBDE des autres polluants organiques persistants. De plus, la liste des composés bromés analysés est constituée de PBDE uniquement. Les congénères BDE-47, 153, 99 et 100 sont les plus fréquemment retrouvés dans les études. La liste des substances sur lesquels il convient de poursuivre des travaux de recherche doit être élargie à d'autres retardateurs de flamme bromés dont le TBBPA.

— Etudes épidémiologiques chez la femme

L'expertise collective de l'Inserm conclut que des études épidémiologiques sont trop peu nombreuses pour conclure à un rôle possible des PBDE sur la santé reproductive de la femme. Alors que certaines études reposent sur des échantillonnages cliniques et peu détaillés et ayant des effectifs souvent faibles, d'autres études d'effectif plus élevé suggèrent des résultats préoccupants (augmentation du délai pour concevoir, perturbation des taux d'hormones LH...) qui doivent être confirmés ou infirmés par de nouvelles études.

Dans les études disponibles, il est difficile de distinguer le rôle des PBDE des autres polluants organiques persistants, tels que les PCB, ayant des structures et des mécanismes d'action similaires aux PBDE, ainsi que des sources potentielles d'exposition communes. Une limite importante de ces études est l'absence de la prise en compte de ces co-

expositions, bien qu'il soit difficile d'isoler le rôle de chaque polluant corrélé. La liste des composés bromés analysés dans les études est constituée des PBDE uniquement. Dans les études référencées, les 4 congénères BDE-47, 153, 99 et 100 sont le plus souvent retrouvés. La liste doit des substances sur lesquels il convient de poursuivre des travaux de recherche être élargie à d'autres retardateurs de flamme bromés (TBBPA).

— Etudes chez l'animal mâle

L'expertise collective de l'Inserm conclut que des effets tels qu'une modification des distances anogénitales chez le mâle, un retard pubertaire, une diminution de la production spermatique et des taux de testostérone, une modification de certains paramètres fonctionnels spermatiques ont été observés après exposition gestationnelle ponctuelle ou exposition pubertaire et adulte avec les composés BDE-99 et 209, avec cependant des doses utilisées très supérieures aux expositions estimées chez l'homme. Les effets délétères sur la fonction thyroïdienne peuvent alerter sur le possible impact indirect sur la fonction de reproduction compte tenu des interrelations entre ces deux fonctions bien que les rares études disponibles ne mettent pas en évidence de lien pertinent entre les paramètres modifiés. L'étude de Van der ven et collaborateurs de 2009, avec une exposition de type chronique à des doses relativement faibles de HBCDD, mettait en évidence des effets délétères sur plusieurs organes/tissus régulés par les hormones faisant suggérer que ce type d'exposition représente un danger potentiel pour l'homme. Il convient de développer d'autres modèles plus pertinents pour l'espèce humaine et d'utiliser des modes d'administration plus adaptés aux conditions réelles d'exposition humaine qu'une injection sous-cutanée unique d'une forte dose d'un seul congénère. Il est également important de développer des approches moléculaires plus fines pour mieux évaluer les perturbations induites par les différentes expositions. Enfin, comme le montre la seule étude longitudinale, il est important d'évaluer les effets au cours du temps car des phénomènes d'adaptation (de récupération) peuvent avoir lieu.

— Etudes chez l'animal femelle

L'expertise collective de l'Inserm conclut que des effets tels qu'un retard pubertaire dans les deux sexes et une diminution du nombre de follicules ovariens ont été observés après exposition gestationnelle ponctuelle ou exposition pubertaire et adulte avec les composés BDE-99 et 209, avec cependant des doses utilisées qui semblent très supérieures aux expositions estimées chez l'homme. Les effets délétères sur la fonction thyroïdienne peuvent alerter sur le possible impact indirect sur la fonction de reproduction compte tenu des interrelations entre ces deux fonctions bien que les rares études disponibles ne mettent pas en évidence de lien pertinent entre les paramètres modifiés. L'étude de Van der ven et collaborateurs de 2009, avec une exposition de type chronique à des doses relativement faibles de HBCDD, mettait en évidence des effets délétères sur plusieurs organes/tissus régulés par les hormones faisant suggérer que ce type d'exposition représente un danger potentiel pour l'homme. Il convient de développer d'autres modèles plus pertinents pour l'espèce humaine et d'utiliser des modes d'administration plus adaptés aux conditions réelles d'exposition humaine qu'une injection sous-cutanée unique d'une forte dose d'un seul congénère. Il est également important de développer des approches moléculaires plus fines pour mieux évaluer les perturbations induites par les différentes expositions. Enfin, comme le montre la seule étude longitudinale, il est important d'évaluer les effets au cours du temps car des phénomènes d'adaptation (de récupération) peuvent avoir lieu.

— Organes et tissus cibles chez le mâle

L'expertise collective de l'Inserm rapporte une étude sur les cellules de Sertoli de souris qui montre des effets de dérégulation de la signalisation Ca⁺⁺ à des concentrations 100 fois

supérieures à celles mesurées chez l'homme. Ces résultats préliminaires nécessitent d'être reproduits et confirmés.

— **Organes et tissus cibles chez la femelle**

L'expertise collective de l'Inserm rapporte quelques études *in vitro* qui semblent indiquer la fait que les PBDE pourraient avoir un effet sur la stéroïdogenèse des cellules des follicules ovariens et de glandes mammaires en agissant *via* le récepteur des oestrogènes. Les pistes ouvertes méritent d'être explorées grâce notamment à des analyses moléculaires plus fines.

3.4 Effets sur la fonction de reproduction : données postérieures à l'expertise collective de l'Inserm

Ce chapitre s'appuie sur la synthèse de revues ou de rapports publiés postérieurement à l'expertise collective de l'Inserm ainsi que sur l'analyse d'articles originaux publiés après 2010 (date de fin de la bibliographie de l'expertise Inserm).

Les résumés des articles sont annexés au présent rapport (cf. Annexe 4).

Etudes sur le système reproducteur mâle

Plusieurs études ont été publiées au cours des cinq dernières années sur les effets des polybromés sur la fonction de reproduction mâle et femelle.

Etudes épidémiologiques

Chez l'homme, l'étude de Meijer *et al.* (2012) a recherché les corrélations entre une exposition prénatale aux composés organohalogénés et des effets sur le développement de la fonction de reproduction masculine. Les auteurs ont mesuré la concentration de plusieurs composés dont les BDE-47, -99, -100, -153, -154 et l'HBCDD dans le sang maternel de 55 femmes à la 35^{ème} semaine de grossesse et les concentrations d'hormones stéroïdiennes (testostérone, testostérone libre, SHBG, LH, FSH, estradiol et estradiol libre et inhibine B) chez leurs garçons âgés de 3 mois. Le volume testiculaire et la taille du pénis ont également été mesurés à 3 et 18 mois. Les résultats montrent une corrélation avec le BDE-154 et l'estradiol (libre et total) ainsi que l'inhibine B ($p = 0,49$, $0,54$ et $0,34$ respectivement), ainsi qu'avec le volume testiculaire à 18 mois (association positive $p = 0,34$). Aucune autre association avec un BDE ou l'HBCDD n'a été observée.

Abdelouahab *et al.* (2011) ont étudié la corrélation entre paramètres spermatiques, taux sériques d'hormones thyroïdiennes et taux sériques de PBDE, de PCB et p-p 'DDE chez des hommes adultes. 52 hommes ont été recrutés dans une clinique de fertilité. Les taux de thyroxine étaient associés négativement aux taux sériques de BDE-47, BDE-99, Σ BDE. Aucune relation n'a été observée entre les substances chimiques étudiées et les taux de T3 et de TSH mesurés. Ces résultats reflètent la possible interférence entre taux de PBDE, qualité du sperme et paramètres thyroïdiens dans la population générale.

Etudes chez l'animal

Chez le rat, une étude 2 générations au cours de laquelle les animaux ont été exposés par voie orale au TBBPA aux doses de 10, 100 ou 1000 mg.kg⁻¹ pc/j n'a pas montré d'effets sur la reproduction, croissance, le comportement et le développement neurologique (Cope et al., 2015). Aux doses de 100 et 1000 mg.kg⁻¹ pc/j, une diminution de la T4 circulante a été observée, sans effet sur la T3 et la TSH. Selon les auteurs, cet effet serait explicable par une induction du métabolisme propre au rat et non extrapolable à l'homme. Une légère diminution de l'épaisseur du cortex pariétal a été rapportée chez les F2 âgés de 11 jours à la plus forte dose. La signification biologique d'une telle modification n'est pas connue. Aucun effet estrogénique, sur la fertilité, la reproduction ou le développement n'a été observé dans les 2 générations.

Dans une autre étude développementale (Cope et al., 2015), une administration orale de GD 0 à GD 19 de TBBPA aux doses de 0, 100, 300 et 1000 mg.kg⁻¹ pc/j n'a montré aucune toxicité maternelle ou sur la descendance.

Une NOAEL de 1000 mg.kg⁻¹ pc/j pour la toxicité maternelle et la toxicité fœtale peut être dérivée de ces 2 études pour le TBBPA.

Le BDE-209 aux doses de 2, 10 et 50 mg.kg⁻¹ a été testé chez 24 rats mâles (Sha et al., 2014). Les effets d'une exposition prépubertaire (30 jours après le 28^e jour de naissance) sur les activités enzymatiques testiculaires des rats ont été étudiés (phosphatase acide, phosphatase alcaline, lactate deshydrogénase et gamma-glutamyl transpeptidase). Les effets sur les enzymes dosées n'ont pas été significatifs ($p > 0.05$). D'autre part, il n'a pas été observé de changements histologiques significatifs des tissus testiculaires.

Dans une autre étude de reproduction sur deux générations chez la souris (Zatecka et al., 2013), le TBBPA entraîne une augmentation de l'apoptose au niveau testiculaire ainsi qu'une modification de la morphométrie des tubes séminifères ainsi que de l'expression des gènes codant pour des protéines impliquées dans la spermatogénèse. Pour autant, aucun effet sur la qualité du sperme et la fertilité n'a été rapporté.

Etudes *in vitro*

Les effets *in vitro* du TBBPA ont été étudiés sur la protéine de résistance au cancer du sein (BCRP), les protéines de résistance multidrogues (MRP1 et MRP4) et la glycoprotéine P (P-gp) sur des vésicules membranaires surexprimant ces transporteurs ABC (Dankers et al., 2013). Le TBBPA inhibait tous ces transporteurs. D'autre part, le TBBPA multipliait par 46 la sécrétion de testostérone par des cellules MA-10 par rapport au contrôle. L'inhibition des protéines MRP par MK-571 a complètement bloqué l'augmentation de la sécrétion de testostérone provoquée par le TBBPA, qui ne pouvait être expliquée par des changements de l'expression des gènes de stéroïdogénèse. L'efflux des précurseurs de testostérone en dehors des cellules MA-10, médié par ces transporteurs inhibés par le TBBPA, entraînerait une plus grande disponibilité des précurseurs de la synthèse de testostérone. Les auteurs suggèrent que les transporteurs ABC pourraient être impliqués dans les effets toxiques testiculaires du TBBPA.

Etudes sur le système reproducteur femelle

Etudes épidémiologiques

Deux études épidémiologiques (Chao et al (2010) Chen et al (2011)) ont étudié le lien entre exposition aux PBDE et l'âge d'apparition des premières règles (ménarche). Les résultats de

ces deux études réalisées sur des effectifs différents ($n = 46$ et $n = 271$) avec des dosages de PBDE sur des matrices différentes (lait et sérum) vont dans le sens d'un effet des PBDE sur l'âge de ménarche. L'étude de Johnson *et al.* suggère que l'exposition au BDE-153 pourrait être associée à des problèmes d'implantation de l'embryon, après une mesure des taux de PBDE dans le liquide folliculaire.

L'étude de Chao *et al.* (2010) s'est attachée à caractériser si de forts taux de PBDE (BDE-15, 28, 47, 49, 99, 100, 153, 154, 183, 196, 197, 203, 207, 208 et 209) dans le lait de femmes en âge de procréer ($n = 46$) pouvaient interférer avec les caractéristiques des menstruations. Le taux moyen de PBDE dans le lait maternel était de 3,42 ng/g de lipides. L'âge des femmes à la ménarche n'était pas corrélé aux concentrations de PBDE dans le lait maternel. Une augmentation du taux de BDE-209 était significativement associée à une prolongation des cycles menstruels indépendamment de l'âge, de l'IMC avant la grossesse, et de la parité. Des concentrations plus élevées des somme de PBDEs et des BDE-183 à 209, à l'exception du 197, étaient significativement liées à des périodes de menstruations irrégulières au moment de l'enquête. Les odds ratios (OR) ajustés sur l'âge des taux de BDE-153, 183, 207, 208, et somme de PBDEs étaient significativement plus élevés chez les femmes ayant une durée moyenne de cycles menstruels > 32 jours, par rapport au témoin. Les femmes dont les menstruations étaient encore irrégulières à l'âge de 18 ans avaient des OR ajustés selon l'âge plus élevés de BDE-207, 208, 209, et des sommes de PBDEs que celles dont les menstruations étaient régulières au même âge.

Chen *et al.* (2011) ont également étudié les effets des PBDE sur l'âge de ménarche chez les adolescentes. Les auteurs ont analysé les données d'un échantillon de 271 adolescentes (12-19 ans) issues de l'Enquête nationale sur la santé et la nutrition (NHANES, 2003-2004). Ils ont estimé l'association entre taux de BDE par congénère et taux de la somme totale de congénères sériques (BDE-28, 47, 99, 100, 153 et 154), ajustés sur les lipides et l'âge moyen de ménarche. La concentration médiane sérique totale de BDE était de 44.7 ng/g de lipides. Des concentrations plus élevées de PBDE sériques ont été associées à des âges plus précoces de ménarche. Chaque unité logarithmique des BDE totaux était liée à un changement de -0.10 (IC_{95%} [-0.33 ; 0.13]) ans d'âge à la ménarche et un OR de 1,60 (IC_{95%} [1.12 ; 2.28]) pour une ménarche avant 12 ans, après ajustement. Selon les auteurs, ces résultats suggèrent que des concentrations élevées de PBDE sériques pendant l'adolescence sont associées à une puberté précoce.

Johnson *et al.* (2012) ont mesuré 8 PBDE dans le sérum et analysé des échantillons de liquide folliculaire ovarien de 65 femmes subissant une fécondation *in vitro* (FIV) afin d'explorer la relation entre exposition aux PBDE et interruption précoce de grossesse. Des corrélations modérées entre concentrations sériques et concentrations du fluide folliculaire de BDE-28, 47, 100 et 154 ont été observées ($T(\beta) = 0,29$ à $0,38$ avec toutes les $p < 0,005$), mais les taux de BDE-99 et 153 n'étaient pas corrélés entre les deux matrices ($T(\beta) < 0,2$, p -values $> 0,05$). Les femmes ayant des concentrations détectables de BDE-153 (39 %) dans le liquide folliculaire avaient des risques plus élevés d'échec d'implantation par rapport aux femmes dont les concentrations étaient non détectables (OR ajusté = 10,0; IC_{95%} [1,9 à 52] ; $p = 0,006$; ajusté selon l'âge et l'indice de masse corporelle).

3.5 Autres effets

2.5.1. Effets sur la fonction thyroïdienne

Principales conclusions de l'expertise collective de l'Inserm (2011) sur la base des données animales ou <i>in vitro</i>
--

Des études animales (Kuriyama *et al.*, 2007), ont alerté sur les effets délétères des composés polybromés sur la fonction thyroïdienne et sur leur possible impact indirect sur la fonction de reproduction compte tenu des interrelations entre ces deux fonctions. D'autres études réalisées chez les poissons et amphibiens ont permis d'affirmer que les retardateurs de flamme bromés ont un effet sur l'axe thyroïdien. Cependant, les effets semblent variables selon l'espèce, le produit testé ou le mode d'exposition (par exemple, taux de T4 qui augmente ou diminue selon les cas), ce qui pose la question de savoir précisément à quel niveau de l'axe se produit cette interférence. Par ailleurs, il est pour l'instant impossible d'établir un lien entre les effets (développementaux, sur la reproduction) de ces molécules et ces anomalies de l'axe thyroïdien.

Les études sur modèle animal réalisées avec les congénères de PBDE individuellement ou sur des mélanges techniques de congénères montrent une altération de l'homoéostasie des hormones thyroïdiennes par les PBDE. L'extrapolation de l'animal à l'Homme des effets d'altération de l'homoéostasie des hormones thyroïdiennes est difficile du fait des différences de taux circulants des hormones thyroïdiennes et leurs capacité de liaison aux protéines de transport circulantes i.e. transthyrétin and thyroid binding globulin (Capen, 1997; Hill *et al.*, 1998). On peut noter qu'une diminution des taux circulants des hormones thyroïdiennes chez l'Homme ou chez l'animal peut conduire à des effets neurodéveloppementaux (Miller *et al.*, 2009). Donc, les données chez les rongeurs sur les effets des PBDE sur la signalisation ou l'homoéostasie des hormones thyroïdiennes peuvent être pertinentes pour conduire une évaluation du risque chez l'Homme.

Etudes épidémiologiques

Plusieurs études chez l'homme ont étudié les effets d'une exposition aux composés polybromés sur les taux sériques d'hormones thyroïdiennes.

Kim *et al.* (2015) se sont intéressés aux taux de sérum du cordon ou aux concentrations sériques de PBDE et les ont comparés aux taux de 5 hormones thyroïdiennes dans le sérum du cordon de nouveaux-nés ainsi qu'au taux de TSH plasmatique prélevé 2 jours après la naissance (n = 104). Dans le sérum du cordon, les BDE-47, 99 ont montré des associations significatives positives avec les taux de TSH des échantillons sanguins.

Miranda *et al.* (2015) ont examiné l'association entre taux sériques de PBDE maternels, poids du nourrisson à la naissance (g), circonférence de la tête (cm), taille à la naissance (cm), et percentile de poids à la naissance en fonction de l'âge gestationnel. Entre 2008 et 2010, 140 femmes enceintes ayant eu une grossesse sans complication ont été recrutées durant leur troisième trimestre de grossesse. Les taux sériques de PBDEs, métabolites phénoliques et hormones thyroïdiennes ont été dosés. Les données rapportées suggèrent une association négative entre les niveaux de PBDE maternels et la circonférence de la tête des nouveaux-nés. Un rôle de médiateur des hormones thyroïdiennes dans les paramètres de naissance n'a pas été mis en évidence.

Vuong *et al.* (2015) ont étudié la relation entre les concentrations de PBDE maternelles et les concentrations d'hormones thyroïdiennes dans le sérum maternel et le sang de cordon en utilisant les données de l'étude HOME, cohorte prospective de 389 femmes enceintes en Ohio, réalisée entre 2003 à 2006 sur des nourrissons. Les concentrations sériques de PBDE et d'hormones thyroïdiennes (n = 187) maternelles ont été mesurées lors de l'inclusion (16 ± 3 semaines de gestation) ; les hormones thyroïdiennes ont également été mesurées dans des échantillons de sérum de cordon (n = 256). Une augmentation de 10 fois des taux de BDE-28 et 47 a été associée respectivement à une augmentation de 0,85 g/dL (IC_{95%} [0,05 ; 1,64] et de 0,82 g/dL (IC_{95%} [0,12 ; 1,51]) des concentrations maternelles totales de thyroxine (TT4). Les deux congénères ont également été associés positivement à la FT4. Les auteurs

ont également observé des associations positives entre BDE-47, TT3 et FT3. Une augmentation de 10 fois du taux de BDE-28 a été associée à des concentrations de FT3 élevée ($\beta = 0,14$ pg/ml ; $IC_{95\%}$ [0,02 ; 0,26]). En revanche, les concentrations de PBDE maternelles ne sont pas associées aux concentrations d'hormones thyroïdiennes dans le sérum du cordon. Ces résultats suggèrent que l'exposition aux PBDE maternels, en particulier les BDE-28 et 47, serait associée à des augmentations de concentrations maternelles de T4 et T3 pendant la grossesse.

Huang *et al.* (2014) ont mené une étude entre novembre 2010 et mai 2011 dans la population générale du Nord de la Chine ; 124 échantillons de sérum ont été obtenus et analysés pour le BDE-17, 28, 47, 66, 99, 100, 153, 154, 183 et 209. La Triiodothyronine (T3) était corrélée avec les BDE-99 et 209 et inversement corrélée avec les BDE-17, 28, 47, 153, 183, et la somme des tri- à hepta-congénères PBDE (Σ_{3-7} PBDEs). La TSH était corrélée avec les taux de BDE-17, 28, 47 et 183 et inversement corrélée avec le BDE-99. Aucune corrélation entre FT4 et PBDE n'a été observée. Les résultats de l'analyse de régression ont indiqué que ceux qui avaient des niveaux plus élevés de BDE-17 ou BDE-153 avaient significativement moins de chances d'avoir des niveaux T3 au-dessus de la normale par rapport à ceux qui avaient des niveaux inférieurs de BDE-17 ou BDE-153. L'association entre FT4 et BDE-153 a disparu après ajustement sur le sexe et l'âge. Cependant, il n'y avait pas d'association significative entre TSH et PBDE.

Johnson *et al.* (2013) ont mesuré les taux sériques d'hormones et les concentrations de retardateurs de flamme (31 PBDE et 6 congénères retardateurs de flamme de remplacement) dans la poussière de maison des hommes recrutés par le biais d'une clinique d'infertilité aux US. Les PBDE dans la poussière ont été regroupés des mélanges commerciaux (à savoir penta-, octa- et déca-BDE). Après ajustement sur l'âge et l'IMC, des associations positives significatives ont été observées entre les concentrations de poussière de penta-BDE et niveaux de T4 libre, T3 totale, estradiol, et SHBG, ainsi qu'une relation inverse entre taux sériques et FSH. Il y avait aussi des associations positives de concentrations d'octa-BDE avec la T4 libre sérique, la TSH, la LH et la testostérone ; une association inverse a été observée entre concentrations de déca-BDE et celles de testostérone. Le taux d'HBCDD a été associé à une diminution de SHBG et une augmentation du taux d'androgènes libres.

Kicinski *et al.* (2012), dans le cadre d'un programme de biosurveillance en Belgique, ont évalué les relations entre fonction neurocomportementale, et taux sériques des congénères 47, 99, 100, 153, 209 de PBDE, d'HBCDD et de TBBPA dans un groupe d'élèves du secondaire (515 adolescents (13,6-17 ans). Après ajustement, les taux sériques au-dessus du niveau de quantification ont été associés à une diminution moyenne du niveau de FT3 de 0,18 pg/ml ($IC_{95\%}$ [0,03 ; 0,34], $p = 0,020$) pour le PBDE-99 et de 0,15 pg/ml ($IC_{95\%}$ [0,004 ; 0,29], $p = 0,045$) pour le PBDE-100, comparativement à des concentrations inférieures au niveau de quantification. Le taux de PBDE-47 au-dessus du niveau de quantification a été associé à une augmentation moyenne du taux de TSH de 10,1 % ($IC_{95\%}$ [0,8 ; 20,2], $p = 0,033$), par rapport à des concentrations inférieures à la limite de dosage.

Kim *et al.* (2012) ont étudié les niveaux d'exposition, la distribution, et les impacts nocifs potentiels des polybromodiphényléthers (PBDE) sur la thyroïde chez 26 enfants atteints d'hypothyroïdie congénitale et leurs mères. Les congénères majoritaires étaient les penta à hepta-BDE, mais les congénères les plus bromés (BDE-197, 196, 207, et 208) étaient les plus retrouvés dans les cas d'hypothyroïdie congénitale. Le BDE-138 n'a été observé que dans les cas d'hypothyroïdie congénitale. Les taux circulants d'hormones thyroïdiennes étaient plus influencés par l'exposition interne aux PBDE chez les mères saines, montrant une relation positive avec la TSH (0,641 avec BDE-154; 0,591 avec BDE-153) et FT4 (0,584 avec BDE-49; 0,572 avec BDE-66) et une relation négative avec T3 (-0,577 avec BDE-154)

dans le groupe contrôle. Aucune corrélation significative n'a été observée dans les cas d'hypothyroïdie congénitale.

Kim *et al.* (2012) ont dosé les taux de 7 PBDE dans le sang de cordon, le sang maternel, et dans 21 échantillons appariés de lait maternel en Corée du Sud (2008). Les niveaux d'hormones thyroïdiennes dans le sang maternel et de cordon ont été mesurés afin d'évaluer l'association entre l'exposition aux PBDE et les niveaux d'hormones thyroïdiennes sériques. Aucune corrélation entre le taux de T4 et le total des concentrations de PBDE n'a été observée.

Leijts *et al.* (2012) se sont intéressés à l'exposition aux retardateurs de flamme bromés dans la période périnatale en formant entre 1987-1991 aux Pays-Bas une cohorte de couples mère-bébé. Les niveaux de T3 étaient positivement corrélés aux taux de BDE-99. Une corrélation positive entre FT4 et le BDE-99 a également été observée.

L'étude de Shy *et al.* (2012) a examiné la relation entre exposition aux PBDE, niveaux d'hormones thyroïdiennes et taux d'IGF-1 dans le sang du cordon de femmes enceintes (centre de Taiwan entre 2000 et 2001, sud de Taiwan de 2007 à 2009). 149 échantillons de lait maternel ont été recueillis dans le mois suivant la délivrance. La somme des 14 PBDE du lait maternel n'était pas significativement corrélée aux taux d'hormones thyroïdiennes et d'IGF-1 dans le sang du cordon. Après ajustement sur divers paramètres, il a été constaté que le log de T4 dans le sang du cordon était significativement positivement corrélé au taux de BDE-154 ($\beta = 0,113$; $p = 0,017$) dans le lait maternel. Le log de la concentration de FT4 était significativement lié à une diminution du log du taux de BDE-99 ($\beta = -0,137$, $p = 0,043$) et une augmentation du log du niveau de BDE-154 ($\beta = 0,158$; $p = 0,008$).

Abdelouahab *et al.* (2011) ont étudié la corrélation entre paramètres spermatiques, taux sériques d'hormones thyroïdiennes et taux sériques de PBDE chez 52 hommes recrutés dans une clinique de fertilité. Les taux de thyroxine étaient associés négativement aux taux sériques de BDE-47, BDE-99, Σ BDE. Aucune relation n'a été observée entre les substances chimiques étudiées et les taux de T3 et de TSH mesurés. Ces résultats reflètent la possible interférence entre taux de PBDE, qualité du sperme et paramètres thyroïdiens dans la population générale.

Eggesbo *et al.* (2011) ont évalué l'association entre 6 PBDE mesurés dans des échantillons de lait de 239 femmes qui faisaient partie de l'« étude norvégienne Human Milk » (HUMIS), 2003-2006 et taux de TSH. L'HBCDD et le BDE-209 ont été mesurés dans un sous-ensemble des femmes (respectivement 193 et 46 échantillons de lait). Les auteurs n'ont observé aucune association statistiquement significative entre les taux de BDE-47, 99, 153, 154, 209, les taux d'HBCDD dans le lait maternel et la TSH dans les modèles ajustés sur les facteurs confondants possibles.

Kim *et al.* (2011) ont fait une étude de la corrélation entre la concentration de PBDE, l'état de santé et la fonction thyroïdienne sur 90 échantillons de sang de cordon et 21 échantillons de lait maternel obtenus dans la population coréenne. Une faible corrélation a été observée entre la concentration de BDE-28 et 153 et la concentration des hormones thyroïdiennes dans les échantillons de lait maternel. Chez les enfants, une faible corrélation négative a été observée entre la concentration en FT4 et la concentration en BDE-28 (0,302, $p < 0,05$), tandis que chez les mères, une faible corrélation positive a été observée entre concentration des hormones thyroïdiennes et la concentration en BDE-153 (0,403, $p < 0,05$).

Li *et al.* (2011) ont dosé des PBDE et les concentrations d'hormones thyroïdiennes dans 36 échantillons de sérum de résidents près d'une zone source de production de PBDE. Une corrélation significative négative entre BDE-28, 47, 153, 183 et TSH, et une corrélation

négative significative entre BDE-183 et FT4 ont été trouvées. En outre, une corrélation positive significative a été observée entre BDE-28, 47 et T3, ainsi qu'entre les BDE-28, 153, 183 et triiodothyronine libre.

Lin *et al.* (2011) ont exploré l'association entre niveaux de PBDE (BDE-15, 28, 47, 99, 100, 153, 154, et 183) dans 54 échantillons de sang de cordon, l'exposition aux PBDE prénatale et les taux d'hormones thyroïdiennes dans le sang du cordon. Après ajustement, un doublement du taux de BDE-154 a été associé à une diminution de 0,043 ng/ml de triiodothyronine (T3) ($r = -0,245$ ajusté, $p = 0,043$). De même, un doublement du taux de BDE-153 a été associé à une diminution de 0,143 ng/mL de T3 libre (FT3) et un doublement du BDE-183 à une diminution de 0,084 ng/mL des valeurs de FT3 (r ajusté = $-0,487$, $p = 0,023$). En revanche, le rapport T4 (thyroxine) / taux de T3 a augmenté de 4,93 (r ajusté = $0,277$, $p = 0,017$) en doublant l'exposition au BDE-100. Aucune association significative avec le BDE-47 ou tout autre PBDE n'a été trouvée. Ces conclusions d'une relation inverse entre BDE-153, BDE-154 ou BDE-183 et les hormones thyroïdiennes confirment les résultats des expériences sur les animaux, mais sont en contraste avec la plupart des études épidémiologiques.

Stapleton *et al.* (2011) ont dosé les PBDE et leurs métabolites dans le sérum d'une population de 140 femmes enceintes en fin de troisième trimestre (> 34 semaines) entre 2008 et 2010. L'objectif secondaire de cette étude était de déterminer si les taux sériques de PBDE ou de leurs métabolites phénoliques (3 recherchés) étaient corrélés aux taux sériques d'hormones thyroïdiennes maternelles (cinq recherchées). Deux congénères de BDE hydroxylés (4'-OH-BDE-49 et 6-OH-BDE-47) ont été détectés dans plus de 67% des échantillons. Les BDE-47, 99, et 100 ont été significativement et positivement associés aux niveaux de T4 libre et totale, y compris après ajustement, et avec des niveaux de triiodothyronine totaux au-dessus de la normale.

Zota *et al.* (2011) ont mené une étude pilote visant à explorer la relation entre les concentrations sériques de PBDE faiblement bromés (BDE-17 à 154), PBDE fortement bromés (BDE-183 à 209), et métabolites de PBDE hydroxylés (OH-PBDE) avec les taux de TSH, de thyroxine totale (T4), et libre (T4) dans des échantillons de sérum de femmes prélevés entre 2008 et 2009 à partir du deuxième trimestre en Californie ($n = 25$). Les concentrations médianes de PBDE bromés et OH-PBDE ont été les plus élevées rapportées à ce jour chez des femmes enceintes. Il a été observé une association positive entre la somme pondérée des produits chimiques connus pour se lier à la transthyréine (des liants Σ TTR) et les taux de TSH. Il a été également constaté des associations positives entre TSH et Σ PBDE (5), Σ OH-PBDE (4), BDE-47, BDE-85, 5-OH-BDE-47 et 4'-OH-BDE-49, et une association inverse avec taux de BDE-207. Les relations entre T4 libre et totale étaient faibles et inconstantes.

Etudes chez l'animal

Chez le rat, une étude 2 générations au cours de laquelle les animaux ont été exposés par voie orale au TBBPA aux doses de 10, 100 ou 1000 mg.kg⁻¹ pc/j n'a pas montré d'effets sur la reproduction, croissance, le comportement et le développement neurologique (Cope *et al.*, 2015). Aux doses de 100 et 1000 mg.kg⁻¹ pc/j, une diminution de la T4 circulante a été observée, sans effet sur la T3 et la TSH. Selon les auteurs, cet effet est serait explicable par une induction du métabolisme propre au rat et non extrapolable à l'homme. Une légère diminution de l'épaisseur du cortex pariétal a été rapportée chez les F2 âgés de 11 jours à la plus forte dose. La signification biologique d'une telle modification n'est pas connue. Aucun effet estrogénique, sur la fertilité, la reproduction ou le développement n'a été observé dans les 2 générations.

Blanco *et al.* (2014) ont examiné le foie de rats de mères exposées à 0, 1 et 2 mg/kg/jour de BDE-99 du jour de gestation 6 au jour postnatal 21. Après sevrage, le foie d'un raton de chaque portée a été excisé pour évaluer les marqueurs de stress oxydatif et l'expression des ARNm de multiples cytochromes P450 (CYP). Pour déterminer si les hormones thyroïdiennes (TH) étaient perturbées, la protéine et l'expression d'ARNm de plusieurs isoformes de récepteurs TH (TR), ainsi que les niveaux de cycline protéine D1, d'Akt et de glycogène synthase kinase 3 β (GSK3 β), ont été évalués. Une exposition périnatale au BDE-99 produit une diminution des niveaux de cycline D1 dans les foies de rats. Une diminution de la forme active de Akt et une augmentation de la forme active de la GSK3 ont été observées. La diminution de la voie Akt peut être due à une perturbation potentielle des actions non géniques des TH par le BDE-99 et ses métabolites. Cette possible interruption des TH a été notée comme une diminution de l'expression des isoformes de TR. En revanche, une régulation positive de l'expression du gène CYP2B1, corrélée avec une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène a été observée. Ce résultat indique une activation du récepteur nucléaire androstane constitutif, ce qui peut induire l'expression d'autres enzymes capables de métaboliser les TH.

Reverte *et al.* (2014) ont évalué les effets à long terme de l'exposition précoce au BDE-209 sur l'anxiété, l'apprentissage de la peur et les taux d'hormones thyroïdiennes chez des souris de différents polymorphismes apoE (ϵ 2, ϵ 3, ϵ 4). Le BDE-209 (0, 10 et 30 mg.kg⁻¹) a été administré par voie orale le jour postnatal 10 (DPN 10). L'exposition postnatale au BDE-209 abaissait les facultés d'apprentissage de la peur chez les souris apoE2 et apoE3. Les niveaux d'hormones thyroïdiennes ont été augmentés chez les souris femelles apoE3 exposées au BDE-209. Ces résultats indiquent des effets durables du BDE-209 sur les niveaux d'apprentissage émotionnels et sur les taux d'hormones thyroïdiennes après une exposition postnatale unique.

Blanco *et al.* (2013) ont examiné les changements neurocomportementaux chez les descendants de rats exposés pendant la période périnatale au BDE-99. Les mères ont été exposées à 0, 1 et 2 mg/kg/jour de BDE-99 du jour de gestation 6 au jour post-natal 21. Lorsque les rats ont été sevrés, les expressions géniques du facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF) dans le cortex et l'hippocampe et les différentes isoformes des récepteurs (TR) des hormones thyroïdiennes (TH) ont été évaluées, ainsi que les niveaux sériques de TH. Il a été constaté que les niveaux de T3, de T4 et de T4 libre sériques ont diminué. Bien qu'aucun effet sur l'expression des gènes des différentes isoformes de TRs n'ait été observé, l'expression du gène du BDNF en lien avec les TH a été régulée à la baisse dans l'hippocampe. Ces résultats indiquent une perturbation de signal des TH et renforcent les études antérieures dans lesquelles les effets neurotoxiques des PBDE chez l'animal ont été observés à des niveaux comparables à ceux observés dans les études humaines.

Maranghi *et al.* (2013) ont comparé les effets de l'HBCDD, du BDE-47, PCB-153 et TCDD chez des souris femelles juvéniles exposées à un régime à base de saumon pendant 28 jours (doses alimentaires : HBCDD 199 mg.kg⁻¹ de poids corporel/jour; BDE-47 450 pg.kg⁻¹ de poids corporel/jour; PCB-153 195 mg.kg⁻¹ pc/jour; TCDD 90 ng.kg⁻¹ de poids corporel/jour). Les niveaux de doses étaient comparables aux NOAEL signalées précédemment. Tous les composés ont provoqué des changements dans le foie, le thymus et de la thyroïde; la rate a été affectée par le BDE-47; les effets les plus forts dans les follicules thyroïdiens ont été provoqués par le PCB-153, dans le thymus et le foie par le BDE-47.

Saegusa *et al.* (2012) ont étudié l'impact et la réversibilité des effets du TBBPA, de l'HBCDD et du DBDE (faibles perturbateurs d'hormones thyroïdiennes) sur le développement neuronal et sur l'apoptose dans la zone subgranulaire du gyrus denté de l'hippocampe. Des rats

Sprague-Dawley gravides ont été exposés à 10, 100 ou 1000 ppm d'éther de décabromodiphényle (DBDE); 100, 1000 ou 10 000 ppm tétrabromobisphénol A (TBBPA) ou 1, 2, 5, 6, 9, 10-hexabromocyclododécane (HBCDD) dans leur régime alimentaire du jour de gestation 10 jusqu'au jour 20 après l'accouchement (sevrage). Le PND 20, la plus forte dose de DBDE et HBCDD a révélé des fluctuations modérées des concentrations sériques d'hormones thyroïdiennes évocant une faible hypothyroïdie de développement, alors que le TBBPA ne montrait pas d'effet.

Lee *et al.* (2010) ont analysé la toxicité du BDE-209 sur des rats mâles Sprague-Dawley exposés à un véhicule ou à du BDE-209 (100, 300 ou 600 mg.kg⁻¹ de poids corporel par jour) à partir du 10^{ème} jour post-natal (PND) 10 au PND 42. Ils n'ont pas observé d'effet sur les organes de la reproduction. Cependant, le foie, la thyroïde et le poids des glandes surrénales ont été significativement augmentés dans le groupe exposé aux doses élevées de BDE-209. La concentration totale de sérum de T3 a été significativement réduite de façon dose dépendante, alors que le niveau de l'hormone stimulant la thyroïde a significativement augmenté après traitement par du BDE-209. Histologiquement parlant, de multiples zones de dégénérescence et une légère atteinte de l'épithélium folliculaire ont été observées dans la glande thyroïde pour des doses élevées (300 et 600 mg.kg⁻¹) de traitement.

Liu *et al.* (2010) ont étudié les effets d'une exposition au BDE-47 sur l'expression de TRalpha1, TRbeta1 tant au niveau de la protéine que de l'ARNm. Des souris C57BL/6 ont été divisées au hasard en 4 groupes et exposées au BDE-47 aux doses de 0,5 ; 5 et 50 mg/kg/pc pendant 4 jours par injection intrapéritonéale. Par rapport au groupe témoin, les niveaux d'expression d'ARNm de TRalpha1 et TRbeta1 ont été augmentés dans les groupes exposés aux doses moyennes et élevées de BDE-47 ($p < 0,05$). Le niveau d'expression protéique de TRalpha1 était significativement augmenté tandis que celui de TRbeta1 était significativement abaissé. Le BDE-47 pourrait changer l'expression des ARNm de TRalpha1 et TRbeta1 ainsi que les niveaux d'expression protéiques hépatiques.

Etudes in vitro

Roberts *et al.* (2015) ont étudié les effets de plusieurs congénères de BDE et de leurs métabolites hydroxylés (OH-BDE) sur l'activité DIO2 (selenodeiodinase type 2 iodothyronine deiodinase) dans les astrocytes, une cellule spécialisée gliale responsable de la production de plus de 50% de la T3 requise par le cerveau. Des astrocytes primaires humains et des cellules de gliome H4 ont été exposés aux PBDE individuels ou OH-BDE à des concentrations allant jusqu'à 5 µM. Le BDE 99 entraînait une diminution de l'activité de DIO2 de 50% dans les cellules primaires d'astrocytes et jusqu'à 80% dans les cellules H4 à des doses ≥ 500 nm. 3-OH-BDE-47, 6-OH-BDE-47, et 5'-OH-BDE-99 ont également diminué de 45-80% l'activité DIO2 dans les cellules H4 de gliome cultivées à des doses d'environ 1-5 µM. Plusieurs mécanismes semblent contribuer à la diminution de l'activité de DIO2, y compris la diminution de l'expression de l'ARNm de DIO2, l'inhibition compétitive de DIO2, et le renforcement post-traductionnel de la dégradation de DIO2.

Dans l'étude de Hu *et al.* (2014), un modèle de cellules HepG₂ surexprimant le récepteur de X pregnane humaine (hPXR) combiné au dosage d'un gène rapporteur a été développé pour étudier le rôle des hPXR dans les altérations de l'expression des enzymes métaboliques et du TR par le BDE-47 *in vitro*. Les résultats montrent que hPXR a été significativement activé par le BDE-47 et les niveaux à la fois de l'ARNm et de protéine du récepteur de la thyroïde (TR) et des isoformes TRα1 TRβ1 ont diminué dans les cellules HepG₂ surexprimant hPXR après traitement par du BDE-47. Cependant, une augmentation de l'expression des enzymes hépatiques CYP3A4 de phase I et des enzymes de phase II, UGT1A3 et SULT2A1 a également été observée.

Butt *et al.* (2013) ont étudié un mécanisme potentiel de perturbation des hormones thyroïdiennes, l'inhibition de l'activité de la sulfotransférase par 14 bromo diphenyl éthers hydroxylés (OH-BDE), le BDE-47, le triclosan, et des analogues iodés, fluorés, chlorés, bromés de 2,4,6-trihalogéné phénol et le bisphénol A (BPA). Sur un modèle de cytosols de foie humain, ils ont étudié l'influence de ces contaminants sur la sulfatation de 3,3'-T2, un substrat majeur pour la sulfatation des TH. Tous les produits chimiques étudiés ont inhibé l'activité de la sulfotransférase à l'exception du BDE-47. Les 2,4,6-trihalogénés sont les inhibiteurs les plus puissants suivis par les groupes d'OH-BDE et les BPA halogénés. Les valeurs d'IC₅₀ pour les OH-BDE étaient de quelques nanomolaires, ce qui peut être pertinent pour l'environnement.

Nakamura *et al.* (2013) ont étudié les affinités de liaison de PBDE et de leurs métabolites à TR et leur capacité à induire la transcription de l'hormone thyroïdienne en utilisant des gènes rapporteurs sur deux lignées cellulaires différentes : une lignée de cellules de l'hypophyse, MtT/E-2 et une lignée de cellules d'ovaire de hamster chinois (CHO). Les tests de liaison ont montré que la plupart des PBDE testés ont une affinité significative pour TR. Fait intéressant, certains de ces PBDE, comme 4'-OH-BDE-17 et 2'-OH-BDE-28, ont agi comme des agonistes lors des tests sur les cellules MTT/E-2, alors qu'ils agissaient comme antagonistes lors de ceux sur les cellules CHO, ce qui peut suggérer que les actions de perturbation thyroïdienne des PBDE diffèrent entre les tissus ou les espèces cibles.

Ren *et al.* (2013) ont examiné la force de liaison de 10 OH-PBDE de différents degrés de bromation à TR en utilisant un essai de liaison compétitive de fluorescence. Les résultats ont montré que les 10 OH-PBDEs se liaient à TR avec une puissance corrélée à leur niveau de bromation. 4 PBDE-OH faiblement bromés (2'-OH-BDE-28, 3'-OH-BDE-28, 5-OH-BDE-47, 6-OH-BDE-47) se sont révélés être des agonistes TR, activant un peptide coactivateur et augmentant la prolifération de cellules GH3. Cependant, trois OH-PBDE fortement bromés (3-OH-BDE-100, 3'-OH-BDE-154, 4-OH-BDE-188) se sont avérés être des antagonistes de TR. Un docking moléculaire a été utilisé pour simuler les interactions de OH-PBDE avec TR : les OH-PBDE faiblement bromés, ligands faibles mais agonistes TR, se lient avec TR sur le côté intérieur de sa poche de liaison, tandis que les composés hautement bromés, ligands puissants mais antagonistes TR, se lient dans la région extérieure. Ces résultats indiquent que OH-PBDE ont des activités sur TR (agonistes ou antagonistes), probablement en raison de leurs différentes géométries de liaison avec le récepteur.

Ren *et al.* (2012) ont utilisé un modèle de fluorescence dans des analyses de liaison compétitive et testé l'affinité de liaison à TBG et à TTR de 11-OH PBDEs ayant différents niveaux de bromation et différentes positions d'hydroxylation. Les résultats indiquent que l'affinité de liaison augmenterait avec le nombre de brome. La position OH joue également un rôle important. 3-OH-BDE-47 et 3'-OH-BDE-154 étaient liés à TTR et TBG de façon plus forte qu'à T4. Les PBDE semblent avoir le potentiel de perturber l'homéostasie thyroïdienne par liaison compétitive avec des protéines de transport de TH.

Blanco *et al.* (2011) ont exposé une culture primaire de neurones granulaires du cervelet de rat (cgns) à une concentration 25 pM de BDE-99. L'objectif principal était d'étudier l'évolution temporelle de la toxicité BDE-99 par rapport à la perturbation du récepteur de la thyroïde (TR) sur 24h. Dans un premier temps, le BDE-99 down régulait directement la transcription des isoformes TR-alpha1 et TR-alpha2, qui peut être une conséquence d'un état hyperthyroïdie-like. Dans un stade ultérieur, le BDE-99 a perturbé l'expression des gènes de réponse à T3, peut-être sous l'effet du métabolisme. Une régulation négative de l'expression du BDNF médiée par T3 et la protéine anti-apoptotique Bcl-2 a également été observée, corrélée à une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). L'expression de l'isoforme TR-beta1, transcriptionnellement réprimée par T3 en cgns, a été régulée à la hausse. Cette régulation à la hausse pourrait compenser la régulation négative

de l'isoforme TR-alpha1, et donc ralentir la mort des cellules. L'action doublement perturbatrice du BDE-99 pourrait fournir une meilleure compréhension du mécanisme potentiellement neurotoxique des PBDE.

Butt *et al.* (2011) ont étudié le lien entre exposition aux retardateurs de flamme bromés, et perturbation des taux circulants d'hormones thyroïdiennes pouvant affecter la croissance et le développement. Cette perturbation pourrait être médiée par des modifications de la déiodinase (DI), qui régule l'activité des niveaux d'hormones capables de se lier aux récepteurs nucléaires. Les cinétiques de déiodination des thyroxines (T4) et triiodothyronine inverse (rT3) ont été mesurées par incubation regroupées de microsomes hépatiques humains avec T4 ou rT3 et le suivi de la production de T3, rT3, 3,3'-diiodothyronine, et 3-monoiodothyronine par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse. Les effets du BDE-99, de plusieurs éthers diphenyliques polybromés hydroxylés (OH-BDE), du tribromophénol et du TBBPA ont été étudiés sur l'activité de DI. Tous les contaminants étudiés inhibent l'activité DI de façon dose dépendante, à l'exception du BDE-99 et de deux groupes OH-BDE. Le 5'-hydroxy 2,2', 4,4', 5-pentabromodiphényléther s'est avéré être le plus puissant inhibiteur de l'activité DI.

Ibhazehiebo *et al.* (2011) se sont intéressés aux effets de l'HBCDD sur une culture de cellules granulaires de cervelet de rat purifié. L'HBCDD à faible dose (10^{-10} M) supprimait de manière significative l'extension des neurites des agrégats de cellules granulaires induite par l'hormone thyroïdienne. Afin de comprendre les mécanismes de cette suppression, du BDNF a été ajouté dans le milieu de culture. Le BDNF a complètement restauré l'extension des neurites des cellules granulaires en présence de T3.

Suvorov *et al.* (2011) ont examiné les interactions du BDE-47 avec le récepteur bêta de la thyroïde (TR β). Les essais réalisés sur la descendance de rats offspring exposés à du BDE-47 montrent qu'il n'interagit pas directement avec TR β 1 et n'influence pas son activité transcriptionnelle.

Schreiber *et al.* (2010) ont étudié l'implication des hormones thyroïdiennes (TH) dans la neurotoxicité des PBDE. Ils ont exposé des cellules primaires progénitrices neuronales foetales humaines (hNPCs) aux BDE-47 et BDE-99 (0,1-10 microM). Les PBDE n'ont pas perturbé la prolifération des hNPCs mais diminué la distance de migration des hNPCs. De plus, ils provoquent une diminution de la différenciation des neurones et des oligodendrocytes. L'exposition simultanée avec le récepteur TH (THR) et l'agoniste triiodothyronine restaure cette migration et cette différenciation, alors que l'antagoniste THR NH-3 n'exerce pas d'effet. Les PBDE perturbent le développement des hNPCs *in vitro* par la perturbation de la signalisation cellulaire TH à des concentrations qui pourraient être pertinentes pour l'exposition humaine.

Les études suivantes ont été recensées dans les recherches bibliographiques avec d'autres mots clés que ceux utilisés pour identifier les effets sur la fonction thyroïdienne. De nombreux résumés traitant les effets sur la fonction thyroïdienne et sur le neurodéveloppement ont ainsi également été identifiés.

Fair *et al.* (2012) ont examiné les effets du mélange penta-BDE commercial, DE-71, chez des souris adultes femelles B6C3F1 sur l'hématologie, les paramètres biologiques sériques, les hormones thyroïdiennes, l'histologie des tissus, et plusieurs effets immunologiques (prolifération des lymphocytes, activité des cellules NK, immunophénotypes spléniques et production d'IgM SRBC-spécifiques). Les souris ont été exposées par gavage pendant 28 jours à 0, 0,5, 5, 50 ou 100 mg.kg⁻¹. Aucun changement dans le poids, les paramètres biologiques, histologiques et cliniques, le corps ou les organes n'a été observé. Les niveaux sériques de T3 et T4 totales n'ont pas été modifiés par les traitements au DE-71. Le nombre

de monocytes périphériques a été réduit aux doses de 0,5, 5 et 50 mg.kg⁻¹ de traitements mais pas à 100 mg.kg⁻¹. Par rapport aux témoins, la prolifération cellulaire des lymphocytes T et B a été augmentée par le traitement à 100 mg.kg⁻¹. L'activité des cellules NK a diminué par rapport aux témoins par le traitement à 100 mg.kg⁻¹. Aucune altération n'a été observée dans les populations de lymphocytes T thymiques ou dans la production spécifique d'IgM SRBC. Le nombre de cellules CD19 (+) CD21 (-) CD19 (+) CD21 (+), CD4 (+) CD8 (-), CD4 (-) CD8 (+), CD4 (-) CD8 (-) et CMH- II (+) dans la rate n'a pas été affectée. Cependant, le nombre des cellules spléniques CD4 (+) CD8(+) a diminué par rapport aux contrôles pour des doses de traitement à 0,5, 5 et 100 mg.kg⁻¹.

Choi *et al.* (2011) ont examiné la toxicité dose-dépendante du TBBPA chez des rats Sprague-Dawley prépubères mâles (jour postnatal 18) traités par voie orale à 0, 125, 250 ou 500 mg.kg⁻¹ pendant 30 jours. Il n'y avait aucune différence dans le poids corporel entre le contrôle et les groupes traités au TBBPA. Cependant, une augmentation significative des poids absolus et relatifs du foie des groupes traités aux doses élevées de TBBPA a été observée. Le traitement par le TBBPA conduit à une induction significative de CYP2B1 et de l'expression du récepteur constitutif des androstanes (CAR) hépatique. En outre, la concentration sérique de T4, a été significativement réduite dans le groupe traité par le TBBPA. Le TBBPA produit des espèces réactives de l'oxygène (ROS) par induction du CYP2B1 chez le rat. Les auteurs ont observé une augmentation de la 8-hydroxy-2'-désoxyguanosine (8-OHdG), un marqueur d'altération de l'ADN par oxydation, dans les reins, le foie et les testicules de rats après traitement au TBBPA.

Dans l'étude de Wang *et al.* (2011), afin de déterminer si une interaction existait entre SPFO et BDE-47 sur les voies médiées par les hormones thyroïdiennes (TH), des rats Wistar femelles adultes ont été exposés à 3,2 et 32 mg.kg⁻¹ de SPFO ou BDE-47 dans leur régime alimentaire et co-exposés à une combinaison de chaque produit chimique (3,2 mg.kg⁻¹) à partir du jour de gestation 1 au jour postnatal (DPN) 14. Le sérum et le cerveau des tissus des nouveaux-nés mâles et femelles ont été recueillis les PNDs 1, 7, et 14 pour examiner le gène TH et l'expression des protéines liées. Les résultats ont montré une différence d'accumulation significative entre les deux produits. De plus, les BDE-47 et le PFOS affectaient les concentrations en triiodothyronine sériques totales et thyroxine totales de façon différente chez les adultes et leur progéniture ; des altérations des concentrations de TH selon les régions et les temps d'exposition ainsi que des niveaux d'expression des gènes et des protéines différentes ont été observées ; l'effet de la combinaison de l'exposition aux deux produits n'a été observé que pour le BDNF : effet synergique au DPN 1 dans le cortex et effet antagoniste au DPN 14 dans l'hippocampe.

2.5.2. Métabolisme et obésité

Principales conclusions de l'EFSA concernant les effets des PBDE sur le métabolisme (2011)

Quelques études établissent un lien entre diabète, prévalence du syndrome métabolique et le taux plasmatique de POP chez l'Homme.

Lim *et al.* (2008), suggèrent l'existence d'une association entre une exposition au BDE-153 et le diabète et la prévalence du syndrome métabolique. Le Panel CONTAM souligne que les études transversales ne semblent pas être les plus appropriées pour rechercher une association entre diabète et exposition aux PBDE car le diabète peut augmenter l'accumulation des PBDE ou inhiber leur clairance.

Principales conclusions de l'EFSA concernant les effets sur le métabolisme des HBCDD (2011)

Le Panel CONTAM note l'existence d'un effet du HBCDD sur la densité minérale des os (van der Ven *et al.*, 2009). Du fait d'une incertitude sur ces données, il est nécessaire de confirmer cet effet par des observations complémentaires.

Il n'a pas été identifié de conclusions de l'EFSA concernant les effets du TBBPA sur le métabolisme.

Il s'agit ici d'évaluer si les retardateurs de flamme exercent un effet délétère sur la survenue de troubles métaboliques, tels que l'obésité, l'insulino-résistance et le diabète de type 2. Or, les PPAR sont des récepteurs nucléaires qui agissent comme des facteurs de transcription activant un grand nombre de gènes impliqués dans le métabolisme et l'obésité. Ainsi, PPAR_{alpha} promeut l'oxydation des acides gras et aura donc une action hypolipémiante présente dans le foie et le muscle. Au contraire, PPAR_{gamma} a une action prépondérante dans le tissu adipeux et stimule le stockage des acides gras et la différenciation adipocytaire. Il est donc légitime de s'interroger sur le potentiel obésogène des retardateurs de flamme bromés.

Dans cette étude, aucun mot clé concernant le métabolisme et l'obésité n'a été utilisé pour la recherche bibliographique. Les données suivantes sont issues des recherches avec d'autres mots clés.

Aucun article n'a été recensé concernant les PBDE-28, 99, 100, 153, 154, 183, HBCDD ou TBBPA.

Etudes *in vitro*

Tung *et al.* (2014) ont étudié les effets de PBDE sur l'adipogenèse dans un modèle cellulaire de préadipocytes 3T3-L1 en présence et en l'absence d'un agent connu adipogène, la dexaméthasone (DEX). Un mélange de PBDE conçu pour imiter la charge corporelle des Nord-Américains a été testé, en plus du mélange technique DE-71 et du congénère BDE-47. Le mélange, le DE-71 et BDE-47 ont tous induit une différenciation adipocytaire (évaluée par des marqueurs de différenciation terminale et l'accumulation de lipides). La caractérisation du processus de différenciation en réponse aux PBDEs a montré que l'adipogenèse induite par une dose efficace minimale de DEX a été augmentée par ces PBDE. En outre, C / EBP α , PPAR γ et LXRA ont été induits en retard dans le processus de différenciation.

Bastos *et al.* (2013) ont étudié les effets de PE aux potentielles propriétés obésogènes sur la méthylation de l'ADN et sur la différenciation des adipocytes *in vitro*. Des cellules de neuroblastome humain SK-N-AS et murins N2A ainsi que des fibroblastes préadipocytaires murins (3T3-L1) ont été exposés à l'HBCDD et au BDE-47. Une légère diminution de la méthylation globale de l'ADN a été observée dans les cellules N2A exposées à 10 μ M de BDE-47, mais aucun effet n'a été observé sur les cellules SK-N-AS humaines. Le BDE-47 augmenterait la différenciation adipocytaire de façon dose dépendante (2,5 à 25 μ m). Des effets modestes ont été observés sur la différenciation adipocytaire aux concentrations testées d'HBCDD (10 μ M).

3.6 Etudes mécanistiques – PPAR

Etudes *in vitro*

Fang *et al.* (2015) ont évalué la puissance de la liaison de plusieurs retardateurs de flamme dont les PBDE au ligand PPAR γ . Une technique de polarisation de fluorescence a été utilisée pour mettre en évidence l'activité de liaison des ignifugeants et d'extraits de

poussière au domaine de liaison du PPAR γ humain. La rosiglitazone a été utilisée comme témoin positif. Les PBDEs se sont révélés être des puissants ligands de PPAR γ . Le composé le plus puissant était le 3-OH-BDE-47, avec une CI₅₀ de 0,24 μ M. Le degré d'halogénéation et la position du groupe hydroxyle affectaient fortement la liaison. Dans les échantillons de poussière, 21/24 échantillons testés ont montré une liaison significative à une dose équivalente de poussière de 3 mg (DEQ)/mL. Une augmentation de 3-16% de la puissance de liaison au PPAR γ a été observée après bioactivation de la poussière en utilisant des fractions S9 hépatiques de rat. L'activité de liaison d'extraits de la poussière au PPAR γ à des niveaux comparables à l'exposition humaine justifie d'autres études sur leurs activités agonistes ou antagonistes et leurs conséquences potentielles effets potentiels sur la santé.

Honkisz *et al.* (2015) ont évalué l'action du TBBPA sur l'expression de la protéine PPAR γ , sur la sécrétion placentaire de progestérone et de β -hCG, sur la viabilité cellulaire et sur l'apoptose *in vitro* dans des cellules placentaires humaines dérivées de choriocarcinome JEG-3. Après traitement par du TBBPA à 10 nM et 10 μ M, l'expression des protéines PPAR γ a augmenté jusqu'à 48 heures, puis a légèrement diminué à 72 h, accompagnée d'une diminution du niveau de β hCG. Il est intéressant de voir qu'un co-traitement avec l'antagoniste GW9662 du PPAR γ a inversé les changements de l'expression de la protéine PPAR γ médiés par le TBBPA, mais, en référence à l'effet sur la sécrétion de β -hCG, a potentialisé l'effet inhibiteur de TBBPA. Enfin, le TBBPA à toutes les doses testées augmentait de façon significative l'activité de la caspase-3 par rapport au contrôle.

Watt *et al.* (2015) ont utilisé un modèle de culture primaire de moelle osseuse de souris pour tester l'hypothèse selon laquelle des contaminants de l'environnement tels que le TBBPA pourraient ou non agir comme agonistes de PPAR γ et dévier la différenciation de cellules souches mésenchymateuses pluripotentes de moelle osseuse de l'ostéogénèse vers l'adipogénèse. Le TBBPA a activé les récepteurs PPAR γ 1 et 2 et augmenté l'adipogénèse (accumulation des lipides, de l'expression FABP4) et supprimé l'ostéogénèse (mesurée par l'activité de la phosphatase alcaline et l'expression OSX).

Kamstra *et al.* (2014) ont examiné les mécanismes, épigénétiques et de transcriptions, sous-jacents à l'induction de différenciation adipocytaire *in vitro* par le BDE-47. Une microscopie quantitative à haute résolution a révélé une meilleure différenciation des adipocytes après exposition à concentration-dépendante au BDE-47 ou à la troglitazone antidiabétique (TROG). Le BDE-47 a modestement activé le facteur clé de transcription adipogénique ou le PPAR γ dans des cellules COS7, transitoirement transfectées avec un gène rapporteur. Une augmentation de l'expression génique a été observée pour PPAR γ 2, la leptine et la sous-unité catalytique (G6PC) glucose-6-phosphatase dans des cellules 3T3-L1 différenciées après exposition au BDE-47 par rapport à l'exposition au TROG. L'analyse des courbes de fusion à haute résolution sensible à la méthylation (MS-HRM) a révélé une déméthylation significative de trois sites CpG au promoteur de PPAR γ 2 après exposition au BDE-47 et au TROG dans les cellules 3T3-L1 différenciées.

Wojtowicz *et al.* (2014) ont étudié l'implication possible du récepteur activé par les proliférateurs de peroxyssomes (PPAR- γ) dans l'apoptose et la toxicité induite par le TBBPA dans des cultures de cellules primaires de neurones de souris. Le TBBPA augmentait à la fois l'activité de la caspase-3 et la libération de lactate déshydrogénase (LDH) dans les cellules néocorticales après 6 et 24 h d'exposition. Des analyses par immunoblot ont montré que, par rapport au contrôle, le TBBPA à 10 μ M diminuait l'expression de la protéine PPAR- γ dans les neurones néocorticaux après 1-24 h d'exposition. Un co-traitement avec du TBBPA et du GW1929 inhibait l'activité de la caspase-3 induite par le TBBPA, la formation de corps apoptotiques, et la libération de LDH, ainsi que la diminution induite par le TBBPA de l'expression de la protéine PPAR- γ .

Grasseli *et al.* (2014) ont étudié les similitudes des modes d'actions du TBBPA avec les hormones thyroïdiennes (THs) impliquées dans le métabolisme des lipides ciblant le foie. Des cellules FAO d'hépatome de rat (lignée de cellules de foie défectueuses pour les TRs fonctionnels) surchargées en lipides ont été utilisées comme modèle pour étudier les effets anti-stéatosiques des THs et du TBBPA dans l'hépatocyte. Après exposition au TBBPA pendant 24h, le contenu en triglycérides et la taille des gouttelettes lipidiques ont été réduits. Le TBBPA et T3 ont montré des effets communs sur la transcription des gènes impliqués dans l'homéostasie lipidique. En particulier, le TBBPA a principalement augmenté la transcription des ARNm des protéines associées à l'oxydation de tissu enrichi en protéine PAT (OXPAT), aux isoformes PPAR β/δ , et à la protéine découplante 2 mitochondriale (UCP2). Les résultats démontrent que le TBBPA pourrait réduire l'accumulation de lipides dans les cellules stéatosiques par stimulation des voies oxydatives.

Riu *et al.* (2011) ont étudié des analogues du BPA dont le TBBPA, potentiels ligands des récepteurs d'œstrogènes (RE) et des récepteurs activés par les proliférateurs de peroxyosomes (PPAR). L'activité des composés a été évaluée en utilisant des lignées cellulaires exprimant les RE et PPARs. Les affinités de liaison au PPAR γ ont été mesurées par des essais de liaison compétitive avec [3H]-rosiglitazone et l'impact du TBBPA sur la différenciation des adipocytes a été étudié en utilisant des cellules NIH3T3-L1. Le TBBPA s'est avéré être un ligand des PPAR γ . Le mécanisme par lequel ces produits chimiques se lient et activent le PPAR γ a été déterminé. Les auteurs ont également constaté que l'activation de l'ER α , ER β et PPAR γ dépendait du degré d'halogénéation des analogues du BPA.

2.5.3. Cancers

Principales conclusions de l'EFSA sur les HBCDD (2011)

Aucune preuve d'un potentiel tératogénique de l'HBCDD.

Les données disponibles indiquent que l'HBCDD n'est pas génotoxique.

Du fait de l'absence de génotoxicité, le panel conclut que la carcinogénicité n'est pas l'effet critique à retenir dans le cadre de la caractérisation des dangers de l'HBCDD.

De plus, l'ECHA (2009b) a conclu que les données disponibles sur la cancérogénicité ne permettent pas de classer le HBCDD au regard des critères de l'U.E.

Principales conclusions de l'EFSA sur les effets cancérogènes des PBDE (2011)

Les données disponibles indiquent que les PBDE n'induisent pas de mutations géniques, mais peuvent causer des dommages à l'ADN par induction d'espèces réactives de l'oxygène.

Concernant le deca-BDE, il existe des preuves d'une augmentation de l'incidence des adénomes hépatiques chez le rat et des adénomes et carcinomes hépatiques chez la souris. Le panel CONTAM Panel souligne que cela est dû à un mode d'action secondaire.

Principales conclusions de l'EFSA sur le TBBPA (2013)

Les données disponibles indiquent que le TBBPA n'est pas génotoxique.

Aucune donnée *in vivo* n'est disponible.

Aucune étude de carcinogénicité sur le TBBPA ou ces dérivés n'est disponible.

Le panel CONTAM conclut qu'il n'y a pas de données probantes en faveur d'un effet carcinogène du TBBPA.

Etudes épidémiologiques

Shy *et al.* (2015) ont étudié à Taïwan, les risques de ne pas développer de cancer (risque quotient : HQ) et de développer un cancer (risque de cancer : R) en lien avec des effets neurocomportementaux suite aux expositions aux PBDE par les poussières dans l'environnement intérieur. Les quotients de risque (HQ) et les risques de cancer (R) se sont avérés inférieurs aux valeurs critiques de 1,00 et $1,00 \times 10^{-6}$, respectivement. Ces résultats suggèrent que les PBDE dans l'environnement intérieur ne sont pas nocifs pour les membres de la famille (du nouveau-né aux personnes âgées) si on ne considère que les effets neurocomportementaux.

Ward *et al.* (2014) ont étudié 167 cas d'enfants atteints de leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) entre 0-7 ans et 214 cas contrôles appariés sur la date de naissance, le sexe et l'ethnicité en Californie du Nord. En 2001-2007, les auteurs ont prélevé des échantillons des tapis des chambres où les enfants avaient passé le plus de temps éveillé ; les concentrations de 14 PBDE, dont le groupe des penta (28, 47, 99, 100, 153, 154), octa (183, 196, 197, 203), et déca-BDE (206-209) ont été mesurées. Les odds ratios (OR) ont été calculés en ajustant sur les paramètres démographiques, le revenu, l'année de collecte de la poussière, et la méthode d'échantillonnage. Les concentrations les plus élevées étaient celles des BDE-47, BDE-99 et BDE-209. Aucune association n'a été mise en évidence avec la LAL pour les penta-BDEs (OR = 0,7; IC_{95%} [0,4 ; 1,3]), les octa-BDE (OR = 1,3; IC_{95%} [0,7 ; 2,3]), ou les déca-BDE (OR = 1,0; IC_{95%} [0,6, 1,8]). En comparant les concentrations les plus élevées mesurées dans les maisons (nanogrammes par gramme) à celles sans détection, une augmentation significative du risque de LAL a été observée pour le BDE-196 (OR = 2,1; IC_{95%} [1.1, 3.8]), BDE-203 (OR = 2,0; IC_{95%} [1.1, 3.6]), BDE-206 (OR = 2,1; IC_{95%} [1.1, 3.9]), et BDE-207 (OR = 2,0; IC_{95%} [1,03, 3,8]).

Ni *et al.* (2012) ont mesuré l'exposition aux BDE-28, 47, 99, 100, 153, 154, 183, et 209 par ingestion de poussière intérieure, par inhalation, et par la consommation alimentaire chez des adultes à Shenzhen, en Chine. La consommation alimentaire s'est avérée être la voie d'exposition la plus importante pour ces 8 BDE, en particulier pour les PBDE moins bromés. Le risque de cancer a été estimé en supposant que les facteurs de pente du cancer de tous les PBDE sont équivalents au BDE-209. Les quotients de danger variaient de $1,2 \times 10^{-5}$ (BDE-209) à $2,0 \times 10^{-2}$ (BDE-47), ce qui suggère un faible risque à l'égard de PBDE. La valeur du risque de cancer variait de $1,1 \times 10^{-24}$ à $5,5 \times 10^{-21}$ suggérant que les risques dus à l'exposition aux PBDE *via* toutes les voies d'exposition sont extrêmement faibles pour les adultes.

Hurley *et al.* (2011) ont mené une étude cas-témoins pour évaluer le risque de cancer du sein associé aux concentrations adipeuses des 5 principaux congénères de PBDE chez des femmes subissant des biopsies mammaires chirurgicales en Californie (n = 78 cas ; 56 témoins). Une régression logistique non conditionnelle a été utilisée pour ajuster les données. Les taux de PBDE mesurés dans le tissu adipeux ont été parmi les plus élevés signalés. Les ORs ajustés des niveaux d'exposition les plus élevés aux plus bas sont les suivants : 0,56 (IC_{95%} [0,19 ; 1,68]) pour le BDE-47; 1,19 (IC_{95%} [0,35 ; 4,10]) pour le BDE-99; 0,91 (IC_{95%} [0,33 ; 2,53]) pour le BDE-100; 0,52 (IC_{95%} [0,19 ; 1,39]) pour le BDE-153; 1,67 (IC à 95% 0,44 à 6,29) pour le BDE-154; 2,04 (IC à 95% 0,45 à 9,20) pour les BDE totales. (IC_{95%} [0,44 ; 6,29]) pour le BDE-154; 2,04 (IC_{95%} [0,45 ; 9,20]) pour les BDE totales. Ces résultats ne fournissent aucune preuve d'une association entre les concentrations de PBDE adipeux mesurées au moment du diagnostic et le risque de cancer du sein.

Qin *et al.* (2010) ont étudié la corrélation entre les concentrations de POP dont les PBDE et l'incidence de léiomyomes utérins (UL), tumeurs non cancéreuses de l'utérus. Les auteurs ont mesuré les PBDE dans la graisse sous-cutanée et viscérale de patientes avec UL et dans la graisse sous-cutanée de femmes sans UL (contrôle). Des concentrations significativement plus élevées ($p < 0,01$ ou $0,05$) de POP dont les PBDE ont été détectées

dans la graisse sous-cutanée des patientes atteintes par rapport au groupe contrôle. Cette étude a montré des niveaux plus élevés, entre autres, de BDE-99 chez les patients avec UL que ceux du groupe témoin. Etant donné que l'UL a une relation étroite avec les niveaux d'oestrogène chez les femmes, et que les PBDE ont des effets semblables à ceux des oestrogènes, ces substances pourraient être associées aux UL.

Etudes chez l'animal

Une récente étude de cancérogénicité du National Toxicology Program de 2 ans a révélé que l'exposition à TBBPA a été associée à une augmentation importante de la fréquence des tumeurs utérines, en particulier les cancers utérins, chez le rat Wistar Han (Harvey *et al.*, 2015). Le carcinome de l'endomètre est le cancer gynécologique le plus courant aux États-Unis et représente 6% de tous les cancers chez les femmes. Il s'agit d'une maladie multifactorielle. Les cancers de l'utérus induits par le TBBPA chez les rats Wistar Han sont caractérisés par une augmentation des mutations de la protéine 53 comparativement aux cancers spontanés de l'utérus, ainsi que par une surexpression du récepteur du facteur de croissance épidermique humain 2. Comme pour les cancers spontanés, les tumeurs chez les rats exposés au TBBPA sont Estrogen Receptor-alpha positifs et progesterone négatifs. La morphologie et les caractéristiques moléculaires des cancers de l'utérus des rats exposés au TBBPA sont semblables à celles des tumeurs de haut grade de type I observées chez les femmes, suggérant que l'exposition au TBBPA pourrait augmenter le risque de cancer.

Etudes *in vitro*

Wang *et al.* (2015) ont étudié les effets du BDE-99 sur les cellules de cancer colorectal (CRC) sur une lignée cellulaire HCT-116 de CRC. Des essais de cicatrization et de migration/invasion Transwell ont été utilisés pour tester la migration et l'invasion des cellules CRC. Les facteurs liés à la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT) ont été mesurés par des analyses des niveaux d'expression des ARNm par PCR en temps réel et de protéines par Western blot. Le BDE-99 augmentait la migration, l'invasion et le déclenchement EMT dans les cellules HCT-116 ; la EMT était caractérisée par l'acquisition des cellules d'une morphologie mésenchymateuse, par une augmentation de l'expression de N-cadhérine et une diminution concomitante de la E-cadhérine. Un traitement par du BDE-99 a également augmenté les taux d'ARNm et de protéines des facteurs de transcription Snail mais pas de Slug, Twist et ZEB1. Un blocage de Snail par des siRNA a significativement atténué l'induction de l'EMT par le BDE-99 dans les cellules HCT-116, ce qui suggère que Snail joue un rôle crucial dans l'induction de l'EMT par le BDE-99. L'inhibiteur PI3K/Akt LY294002 a complètement bloqué l'induction de Snail par le BDE-99 et l'invasion des cellules HCT-116 induite par le BDE-99.

Les dérivés hydroxylés des PBDE ont beaucoup attiré l'attention sur leurs effets toxicologiques. Dans l'étude de Qu *et al.* (2015), il a été constaté que le 6-OH-BDE-47, le congénère OH-PBDE le plus abondant dans le sérum humain, stimule *in vitro* la migration des cellules H358 et A549 de cancer du poumon par induction de la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT). Cela a été confirmé par une down regulation significative de l'expression de marqueurs épithéliaux E-cadhérine (E-Cad) et zona occludin-1 (ZO-1) et une down régulation des marqueurs mésenchymateux vimentine (Vim) et N-cadherin (N-Cad). Le 6-OH-BDE-47 up régulait les taux de protéines mais pas les taux d'ARNm de Snail, facteur de transcription clé de EMT. Un blocage de Snail par l'utilisation de siRNA atténuait l'induction de l'EMT par le 6-OH-BDE-47. Cela suggérait que Snail est essentiel pour l'induction de l'EMT par le 6-OH-BDE-47. En outre, un traitement par le 6-OH-BDE-47 augmentait la phosphorylation de Akt et de ERK dans les cellules A549. Seul un inhibiteur PI3K/Akt (LY294002), mais pas un inhibiteur de ERK (PD98059), a complètement bloqué l'up régulation de Snail par le 6-OH-BDE-47 et la régulation négative des E-Cad, suggérant

que la voie PI3K/Akt est importante pour la stabilisation de Snail par le 6-OH-BDE-47 et la EMT dans les cellules A549.

An *et al.* (2014) ont voulu étudier l'influence de l'HBCDD sur la chimiorésistance des cellules de carcinomes hépato-cellulaires HCC (HepG2, MHCC97H et MHCC97L) au cisplatine et explorer le mécanisme moléculaire impliqué. La viabilité des cellules, les lésions de l'ADN, le niveau d'expression et l'activité du facteur nucléaire kB (NF-kB), p53/Mdm4, et la voie phosphatidylinositol 3-kinase / protéine kinase B (PI3K/Akt) ont été mesurés. Les résultats ont montré que HBCDD pourrait réduire de manière significative la chimiosensibilité des cellules HCC au cisplatine, l'augmentation de la viabilité des cellules et la diminution de dommages à l'ADN. En outre, l'HBCDD pourrait induire l'activité transcriptionnelle de NF-kB et réprimer l'expression de p53 dans les cellules HepG2 et MHCC97H. Dans les cellules MHCC97L, cependant, des changements opposés de l'expression protéique de NF-kB et de son activité transcriptionnelle et de l'expression de la protéine p53/Mdm4 ont été observés après exposition. Une étude plus poussée a révélé qu'une exposition à l'HBCDD augmentait de façon significative le niveau d'expression de p-Akt et de mTOR dans les cellules HepG2 et MHCC97H, mais réduisait les niveaux d'expression dans les cellules MHCC97L. Un inhibiteur de PI3K (LY294002) pourrait bloquer l'influence de l'HBCDD sur la chimiorésistance dans les cellules HepG₂ et MHCC97H.

Li *et al.* (2014) ont étudié les effets toxiques du BDE-209 sur des cellules de rein embryonnaire humain (HEK293T). La comparaison des profils d'expression génique des cellules HEK293T après traitement par du BDE-209 avec un contrôle a montré que l'exposition au BDE-209 pouvait changer l'organisation du nucléosome en modifiant de manière significative l'expression des gènes d'histone. Le remodelage de la structure de la chromatine pourrait identifier le lupus érythémateux disséminé comme l'un des effets toxiques du BDE-209. En outre, des modulations de gènes impliqués dans différents cancers sont positivement corrélées avec l'exposition au BDE-209. Ceci suggère que le BDE-209 dispose d'un potentiel cancérigène pour une variété de tumeurs.

Cui *et al.* (2010) ont examiné les effets du BDE-99 sur l'expression des ARNm et des protéines de c-Myc et p53 sur des cellules MCF-7. Les cellules ont été cultivées dans du milieu d'Eagle modifié par Dulbecco. A la concentration de 1×10^{-4} à 10^{-8} mol.L⁻¹, le BDE-99 a stimulé la prolifération des cellules MCF-7 de façon concentration- et temps-dépendants. La RT-PCR et les analyses immunohistochimiques ont révélé qu'un traitement avec 1×10^{-4} à 10^{-7} mol.L⁻¹ pendant 72 heures entraînait une augmentation significative de l'expression des ARNm et des protéines c-Myc et inhibait la protéine p53. Il est possible que le BDE-99 exerce une action oestrogénique et stimule la prolifération des cellules du cancer du sein MCF-7 sensibles aux oestrogènes.

Les effets *in vitro* du TBBPA ont été étudiés sur la protéine de résistance au cancer du sein (BCRP), les protéines de résistance multidrogues (MRP1 et MRP4) et la glycoprotéine P (P-gp) sur des vésicules membranaires surexprimant ces transporteurs ABC (Dankers *et al.*, 2013). Le TBBPA inhibait tous ces transporteurs. D'autre part, il multipliait par 46 la sécrétion de testostérone par des cellules MA-10 par rapport au contrôle. L'inhibition des protéines MRP par MK-571 a complètement bloqué l'augmentation de la sécrétion de testostérone provoquée par le TBBPA, qui ne pouvait être expliquée par des changements de l'expression des gènes de stéroïdogénèse. L'efflux des précurseurs de testostérone en dehors des cellules MA-10, médié par ces transporteurs inhibés par le TBBPA, entraînerait une plus grande disponibilité des précurseurs de la synthèse de testostérone. Les auteurs suggèrent que les transporteurs ABC pourraient être impliqués dans les effets toxiques testiculaires du TBBPA.

Le HBCDD est connu pour provoquer des perturbations du système endocrinien avec une toxicité sur le système nerveux. Dans l'étude de Park *et al.* (2012), les effets oestrogéniques de le HBCDD ont été examinés dans une lignée de cellules de cancer de l'ovaire, BG-1, exprimant des niveaux élevés d'ER (récepteur aux oestrogènes). Un traitement avec de le HBCDD (2×10^{-8} ; 2×10^{-6} M) a entraîné une augmentation de la prolifération cellulaire des cellules BG-1 observée avec le 17- β estradiol (E2). En outre, le HBCDD régulait à la hausse après 6 h de traitement les taux d'expression des gènes du cycle de régulation cellulaire, tels que la cycline D et la cycline-dépendante kinase 4 (CDK-4), qui sont des gènes cibles en aval de l'ER. Toutefois, l'expression du gène p21 n'a pas été altérée par l'HBCDD comme avec E2. Le HBCDD aurait des propriétés oestrogène-like en stimulant la prolifération cellulaire de cellules BG-1 et en induisant l'expression de la cycline D et CDK-4.

2.5.4. Immunotoxicité

Principales conclusions de l'EFSA sur les effets des PBDE sur le système immunitaire (2011)

Un effet toxique des PBDE sur le système immunitaire est suggéré par la réduction de la résistance aux infections par des micro-organismes.

En conclusion, les effets immunotoxiques sont observés après 8 semaines d'exposition dans un intervalle de doses de 0.457 ou 0.777 mg BDE-71.kg⁻¹ p.c. par jour.

Principales conclusions de l'EFSA concernant les effets des HBCDDs sur le système immunitaire (2011)

Du fait d'une incertitude sur les données, le panel CONTAM recommande de ne pas utiliser les BMDL construites comme point de départ pour caractériser les dangers.

Conclusions de l'EFSA concernant les effets du TBBPA sur le système immunitaire (2013)

Le peu de données disponibles semble montrer un effet du TBBPA sur le système immunitaire indiquant que le TBBPA peut altérer le système immunitaire hôte de la souris après une administration de 1,700 mg.kg⁻¹ p.c par jour (dose unique testée) pendant 28 jours (Watanabe *et al.*, 2010).

Etude épidémiologique

Aucune étude chez l'être-humain n'a été identifiée.

Etudes chez l'animal

Dans l'étude de Feng *et al.* (2015), un modèle animal simulant l'exposition professionnelle à long terme au BDE-209 a été mis en place. Du BDE-209 à une dose de 800 mg.kg⁻¹ pc à deux jours d'intervalle pendant 2 ans a été administré par voie intragastrique à des souris femelles C57BL / 6 (n = 10) avec un taux sanguin d'environ 200 ng.mL⁻¹, taux comparable aux niveaux de BDE-209 détectés chez les travailleurs ; les résultats montrent que de grandes quantités de produits se sont accumulées dans la plupart des tissus, et préférentiellement dans l'ovaire, l'utérus, le foie et le poumon. Une diminution de la survie a été observée chez les souris exposées. Une hépatomégalie a été observée ultérieurement chez les souris exposées, avec des changements histopathologiques dans le foie, les poumons, le cerveau, la rate, le rein et l'ovaire. Aucune lésion néoplasique n'a été observée dans cette étude d'exposition à vie.

Dans l'étude de Zeng *et al.* (2014), du BDE-209 aux doses de 8, 80 ou 800 mg.kg⁻¹ de poids corporel (pc) à des intervalles de 2 jours a été administré par voie intragastrique à des souris adultes. Les résultats ont montré qu'une exposition continue au BDE-209 augmentait les

niveaux plasmatiques de BDE-209, s'approchant des niveaux mesurés chez les travailleurs exposés aux PBDE. Une réduction des leucocytes, une diminution de la production de cytokines (IFN- γ , IL-2 et TNF- α) et une diminution de la prolifération des lymphocytes T CD8 ont été observées chez les souris exposées. En outre, les souris exposées au BDE-209 sur du long terme avaient un nombre plus faible de cellules T CD8 spécifiques de l'antigène après immunisation avec *Listeria monocytogenes* recombinante exprimant l'ovalbumine (RLM-OVA) ; les lymphocytes T CD8 spécifiques d'OVA avaient une fonction réduite.

Fair *et al.* (2012) ont examiné les effets du mélange penta-BDE commercial, DE-71, chez des souris adultes femelles B(6)C(3)F(1) sur le système hématopoïétique, les paramètres biologiques sériques, les hormones thyroïdiennes, l'histologie des tissus, et plusieurs effets immunologiques (prolifération des lymphocytes, activité des cellules NK, immunophénotypes spléniques et production d'IgM SRBC-spécifiques). Les souris ont été exposées par gavage pendant 28 jours à 0 ; 0,5 ; 5 ; 50 ou 100 mg.kg⁻¹. Aucun changement dans le poids, les paramètres biologiques, histologiques et cliniques, le corps ou les organes n'a été observé. Le nombre de monocytes du sang périphérique a été réduit aux doses de 0,5 ; 5 et 50 mg.kg⁻¹ de traitement mais pas à 100 mg.kg⁻¹. Par rapport aux témoins, la prolifération cellulaire des lymphocytes T et B a été augmentée par le traitement à 100 mg.kg⁻¹. L'activité des cellules NK a diminué par rapport aux témoins par le traitement à 100 mg.kg⁻¹. Aucune altération n'a été observée dans les populations de lymphocytes T thymiques ou dans la production spécifique d'IgM SRBC. Le nombre de cellules CD19 (+) CD21 (-) CD19 (+) CD21 (+), CD4 (+) CD8 (-), CD4 (-) CD8 (+), CD4 (-) CD8 (-) et CMH-II (+) dans la rate n'a pas été affecté. Cependant, le nombre des cellules spléniques CD4 (+) CD8 (+) a diminué par rapport aux contrôles pour des doses de traitement à 0,5 ; 5 et 100 mg.kg⁻¹.

Hachisuka *et al.* (2010) ont évalué l'immunotoxicité du HBCDD sur des rats Sprague-Dawley ayant reçu des concentrations alimentaires de 0 ; 100 ; 1 000 et 10 000 ppm du jour de gestation 10 au jour postnatal 21 (semaine postnatale 3, PNW3). A PNW3 et PNW11, l'expression des marqueurs de surface (CD3, CD4, CD8A, CD25, CD45RA, CD71 et CD161 (NKRP1A) des lymphocytes dans la rate, le thymus, et le sang périphérique des petits mâles a été étudiée. Les poids de la rate et du thymus, et le nombre de globules blancs des deux organes n'a pas changé entre les groupes témoins et ceux exposés. Une diminution significative de T3 et une augmentation de la concentration d'albumine sérique ont été observées du PNW3 au PNW11. Après analyse cytométrique, ces changements n'ont pas été observés dans les lymphocytes T/B spléniques et thymiques entre le groupe traité et le groupe témoin. Dans le sang périphérique de rats PNW3, la population des cellules T activées a été diminuée et celle des cellules B inactives a été augmentée. Le nombre de cellules NK dans la rate avait diminué. Tous ces changements ont été modérés, et sont revenus à la normale au PNW11. Après immunisation à la KLH, la production d'IgG anti KLH a été réduite après traitement à 10 000 ppm d'HBCDD.

Etudes *in vitro*

Almughamsi *et al.* (2016) ont examiné si le HBCDD et le TBBPA influent sur la sécrétion d'IFN- γ à partir de préparations complexes des cellules humaines immunitaires de cellules NK purifiées (MD), des monocytes du sang périphérique appauvris (PBMC) et les CMSP. L'HBCDD et le TBBPA ont été testés à des concentrations comprises entre 0,05 et 5 μ M. L'HBCDD généralement augmentait la sécrétion d'IFN- γ , après 24 h, 48 h, et 6 jours d'exposition dans chacune des différentes préparations de cellules. En revanche, le TBBPA a tendance à diminuer la sécrétion d'IFN- γ par les cellules NK, MD-CMSP et les CMSP. Les voies de signalisation qui ont la capacité de réguler la production d'IFN- γ (facteur nucléaire kappa B (NF- κ B), p44 / 42, p38, JNK) ont été examinées pour leur rôle dans les augmentations d'IFN- γ induites par l'HBCDD. Les résultats ont montré que la p44 / 42

(ERK1 / 2) et la voie des MAPK semblent jouer un rôle dans l'augmentation de l'IFN- γ par l'HBCDD.

Anisuzzaman et al. (2015) ont étudié si l'exposition à des concentrations variables (0,05-5,0 μ M) de TBBPA et HBCDD pendant 24 h, 48 h et 6 jours interférait avec la capacité des cellules immunitaires à sécréter de l'IL-1 β . Les préparations de cellules immunitaires humaines examinées sont des cellules NK, des monocytes appauvris (MD), les cellules mononucléaires du sang périphérique appauvries en monocytes (MD-PBMC) et les PBMC. Une augmentation ou une diminution de la sécrétion d'IL-1 β dans les trois types de préparation de cellules ont été observées après exposition au TBBPA, concentration et temps dépendants. L'exposition à HBCDD de 0,5-5,0 μ M a provoqué des augmentations de sécrétion d'IL-1 β pour toutes les durées d'exposition dans toutes les préparations de cellules. Une analyse sur des cellules MD-PBMC des voies de signalisations responsables de l'élévation de la sécrétion d'IL-1 β après exposition à l'HBCDD a été effectuée : les voies MAPK (ERK1 / 2 et p38) semblent être les cibles de l'HBCDD conduisant à une sécrétion accrue d'IL-1 β .

Cato et al. (2014) ont évalué si l'HBCDD et / ou TBBPA avaient la capacité d'activer les protéines MAPK et kinases MAPK (MAP2Ks). Les effets des concentrations de HBCDD et de TBBPA qui inhibent la fonction lytique, l'état de phosphorylation et les niveaux totaux des MAPK (p44 / 42, p38 et JNK), l'état de phosphorylation et les niveaux totaux des MAP2Ks (MEK1 / 2 et MKK3 / 6) ont été examinés. Les résultats indiquent que l'exposition des cellules NK humaines à 10 à 0,5 μ M HBCDD ou TBBPA activent les protéines MAPK et MAP2Ks. Cette activation peut contribuer à diminuer la fonction lytique des cellules NK exposées à de l'HBCDD et au TBBPA.

Koike et al. (2014) ont examiné la stimulation des mélanges commerciaux penta-BDE (DE-71), octa-BDE (DE-79), et déca-BDE (DE-83R) sur des cellules épithéliales bronchiques humaines (BEAS-2B) après exposition à chaque PBDE pendant 24 heures. Par la suite, les expressions de la molécule intercellulaire-1 adhérence (ICAM-1) et des cytokines pro-inflammatoires ont été étudiées. Le DE-71 et le DE-79, mais pas le mélange DE-83R, ont augmenté de manière significative l'expression de l'ICAM-1, l'IL-6 et l'IL-8 dans BEAS-2B. Le DE-71 a augmenté la phosphorylation de l'EGFR. Les inhibiteurs sélectifs de l'EGFR tyrosine kinase sélectif et de la p38 MAP kinase ont efficacement bloqué l'augmentation de l'IL-6 et IL-8. En outre, des antagonistes du récepteur de l'hormone thyroïdienne et du récepteur d'hydrocarbures aryles supprimaient de façon significative l'augmentation de l'IL-6 et / ou IL-8. En conclusion, les mélanges penta et octa-BDE, mais pas le déca-BDE, pourraient favoriser l'expression de protéines pro-inflammatoires dans les cellules épithéliales bronchiques en activant des protéines kinases et / ou en stimulant des récepteurs nucléaires liés à l'activation de facteurs de transcription.

Koike et al. (2013) ont étudié les effets immunitaires du mélange commercial pentabromodiphényléther (DE-71), le mélange DE-79, le mélange (DE-83R), l'HBCDD et le TBBPA. Des splénocytes et des cellules de moelle osseuse (BM) ont été préparées à partir de souris atopiques NC / Nga. Des splénocytes ont été exposés à chaque composé pendant 24 h. Les cellules de BM ont été cultivées avec du GM-CSF pendant 8 jours et les cellules dendritiques dérivées (BMDCs) ont été exposées à chaque composé pendant 24 h. Dans une autre expérience, les cellules de BM ont été cultivées avec du GM-CSF en présence de chaque composé pendant 6 jours au cours de la différenciation des BMDC. Chaque composé a augmenté l'expression du CMH de classe II, du CD86 et la production d'interleukine (IL-4) par les splénocytes. Le DE-71, l'HBCDD et le TBBPA ont augmenté l'expression des récepteurs des cellules T (TCR) dans les splénocytes. Dans les deux expériences, tous les composés (en dehors du TBBPA) ont augmenté l'expression de

DEC205 dans BMDCs. Les BMDCs différenciées en présence d'HBCDD ont montré une augmentation de l'expression du CMH de classe II, du CD80, du CD86 et du CD11c.

Wang *et al.* (2012) ont évalué si une faible concentration de BDE-47 pouvait causer un effet d'hormèse dans des cellules d'hépatome humain HepG2, et explorer le mécanisme moléculaire impliqué. Les résultats ont montré qu'une faible concentration de BDE-47 (10^{-10} , 10^{-9} et 10^{-8} M) pourrait favoriser la prolifération cellulaire sans effet sur l'ADN ou l'apoptose des cellules, alors qu'une forte concentration inhibe significativement la prolifération cellulaire. Pour les groupes traités aux faibles concentrations de BDE-47, les espèces réactives de l'oxygène (ROS) étaient significativement plus élevées par rapport au groupe témoin. Après un traitement par une faible concentration en BDE-47, l'expression d'antigène nucléaire de prolifération cellulaire (PCNA), cycline D1, les cellules DNA-PKcs et p-Akt dans les cellules HepG2 était nettement régulée à la hausse. Cependant, dans les cellules inhibées DNA-PKcs, l'effet de promotion de la prolifération cellulaire a été supprimé de façon significative. L'analyse du cycle cellulaire a montré une diminution significative de la phase G1 après exposition à une faible concentration de BDE-47. En outre, la pré-exposition à faible concentration BDE-47 semblait atténuer les effets négatifs de l'exposition aux concentrations élevées (50 μ M) causant des dommages sur l'ADN augmentant l'apoptose.

Les études de Hurd *et al.* (2011) et de Hinkson *et al.* (2010) ont évalué les effets d'une exposition au TBBPA et à l'HBCDD sur les fonctions lytiques des cellules NK. La première étude a montré que la fonction de destruction tumorale par les cellules NK peut être considérablement réduite par le TBBPA, qui diminue leur faculté de liaison aux cellules cibles. Les cellules NK ont été exposées au TBBPA pendant 24 h, 48 h et 6 jours ou pendant 1 h puis 24 h, 48 h et 6 jours dans un milieu exempt en TBBPA. Les effets de l'exposition à ces concentrations ont été étudiés sur l'expression des protéines de surface cellulaire (CD2, CD11a, CD16, CD18 et CD56) impliquées dans la liaison aux cellules cibles. Après 24 heures d'exposition à 5 μ M de TBBPA, une diminution d'un facteur 4 des protéines de surface cellulaire examinées a été observée. CD16 a diminué de plus de 35%. La diminution des protéines de surface cellulaire après une exposition de 48 heures était similaire à celle observée après 24 heures.

Dans la seconde étude, Hinkson *et al.* (2010) se sont intéressés aux effets du HBCDD sur les cellules NK. Les cellules NK ont été exposées à l'HBCDD pendant 24 h, 48 h ou 6 jours ou à l'HBCDD pendant 1 h, puis 24 h, 48 h ou 6 jours dans des milieux sans HBCDD. Leur fonction et l'expression de protéines de liaison en surface cellulaire ont été examinées. Les résultats indiquent qu'une exposition des cellules NK à 10 μ M HBCDD pendant 24 heures a entraîné une perte de la fonction lytique supérieure à 90% et une diminution très significative de la capacité de liaison cellulaire des cellules NK (70,9%), et de l'expression des protéines de surface CD16 et CD56 (57,8 et 24,6% respectivement). Les cellules NK exposées à 10 μ M HBCDD pendant 1 heure suivie de 24 heures d'exposition à un milieu sans HBCDD ont montré une perte de fonction lytique de 89,3%, une diminution des fonctions de liaison de 79,2% et de l'expression du CD 16 de 48,1%.

2.5.5.Troubles du neurodéveloppement

Principales conclusions de l'EFSA sur les effets sur le neurodéveloppement des PBDE (2011)

Les études expérimentales sur le neurodéveloppement chez le rongeur montrent que les PBDE altèrent la réponse comportementale à un nouvel environnement. Dans un certain nombre d'études sur le neurocomportement utilisant une dose unique, l'effet portée n'a pas été pris en compte.

Le panel CONTAM note qu'il y a des arguments plaidant pour l'utilisation de ces études pour une évaluation des risques chez l'Homme.

Principales conclusions de l'EFSA sur les effets sur le neurodéveloppement du mélange HBCDD (2011)

Les études expérimentales portant sur le neurodéveloppement chez le rongeur montrent que le HBCDD induit des effets sur le comportement. Bien qu'utilisant des doses uniques, le panel CONTAM note qu'il y a cependant des arguments plaidant pour l'utilisation de ces études pour une évaluation des risques chez l'Homme.

Principales conclusions de l'EFSA concernant les effets du TBBPA sur le neurodéveloppement (2013)

Quelques publications ont étudié un effet possible du TBBPA sur le comportement.

Considérant, le peu d'information disponible sur les protocoles expérimentaux et l'observation de doses-réponses inhabituelles, le panel CONTAM conclut que ces résultats ne peuvent pas être utilisés pour une évaluation du risque chez l'Homme.

Les effets sur le neurodéveloppement ont été identifiés par une recherche avec les mots clés « brain », « neurodevelopment », « nervous system », « neural », « behavior/behaviour », « receptors ».

Etudes épidémiologiques

Plusieurs études humaines montrent des liens entre exposition aux PBDE et effets neurocomportementaux. Les résultats, parfois imprécis, du fait des effectifs, de la recherche d'autres contaminants et d'effets simultanés par exemple sur la thyroïde, doivent être confortés. D'autres recherches sont nécessaires pour évaluer la neurotoxicité des PBDE. Les coexpositions doivent également être prises en compte.

Cowell *et al.* (2015) ont étudié des couples mère-enfant de femmes d'origine européenne, noire et chinoise enceintes et transportés le 11 Septembre 2001 dans 1 hôpital du centre de New York (USA). Les couples mère-enfant ont été suivis jusqu'à l'âge de 7 ans des enfants. Les concentrations de PBDEs dans le sang du cordon et plasmatiques de 210 échantillons ont été analysées. Le comportement des enfants a été étudié chaque année entre les âges de 3 et 7 ans. Quatre PBDE ont été détectés dans plus de 50% des échantillons, avec des concentrations plus élevées pour le BDE-47 (médiane \pm IQR : 11,2 \pm 19,6 ng/g). Après ajustement, des associations positives entre le BDE-47 (1,21 ; IC_{95%} [1,00 ; 1,47]), et BDE-153 (1,18 ; IC_{95%} [1,00 ; 1,39]) dans le sang de cordon et la survenue de problèmes d'attention chez les enfants de 4 ans (n = 109) ont été détectées. Aucune association n'a été détectée pour ceux de 6 ans, (n = 107).

En rapport avec l'étude précédente, Herbstman *et al.* (2010) ont examiné le lien entre l'exposition prénatale aux PBDE et le neurodéveloppement dans une cohorte longitudinale initiée après le 11 Septembre 2001, chez 329 mères ayant accouché dans un hôpital à Manhattan, New York (USA). 210 échantillons de sang de cordon ont été analysés pour les PBDE sélectionnés et les effets neurodéveloppementaux évalués chez les enfants à 12, 48 et 72 mois; 118, 117, 114, 104, et 96 enfants avec des mesures de PBDE disponibles de cordon ont été évalués respectivement à 12, 24, 36, 48 et 72 mois. Après ajustement, les enfants aux concentrations plus élevées de BDE-47, 99, ou 100 présentaient des résultats inférieurs aux tests de développement mental et physique à 12, 48 et 72 mois. Les associations étaient significatives à 12 mois pour l'Indice de développement psychomoteur (BDE-47), à 24 mois pour l'index de développement mental (MDI) (BDE-47, 99 et 100), pour le MDI à 36 mois (BDE-100), le QI total et verbal à 48 mois (BDE-47, 99 et 100), le QI de performance à 48 mois pour le BDE-100 et le QI de performance à 72 mois (BDE-100).

Dans l'étude de Ding *et al.* (2015) 232 mères ont été recrutées dans une cohorte de naissance prospective dans les régions rurales du nord de la Chine entre septembre 2010 et février 2012. Au total, 232 échantillons de sang de cordon ont été analysés pour les PBDE sélectionnés (BDE-47, 99, 100 et 153) ; l'association avec les quotients de développement des enfants (DQs) à 12 (n = 192) et 24 (n = 149) mois a été évaluée sur la base d'échelles d'évaluation du développement moteur, d'adaptation, du langage, et de la sociabilité. A 12 mois, aucun congénère ou Σ PBDE n'étaient associés au DQs. Cependant, à 24 mois, une augmentation de 10 fois du niveau de BDE-99 était associée à une diminution de 2,16 points (IC_{95%} [-4,520 ; -0,20]) dans les domaines DQs du langage ; une augmentation de 10 fois du niveau de BDE-47 a été également associée à une diminution de 1,89 points (IC_{95%} [-3,75 ; -0,03]) dans le domaine de sociabilité du DQs.

Donauer *et al.* (2015) ont mesuré dans une cohorte de 349 couples mère-bébé, les concentrations sériques maternelles pendant la grossesse de PBDE, dont le BDE-47 et d'autres congénères. A l'âge de 5 semaines, le neurocomportement des enfants a été mesuré en utilisant l'échelle NNNs. L'exposition aux PBDE pendant la gestation n'était pas été associée aux résultats des mesures NNNs. Aucune association entre les concentrations de PBDE et hypotonie n'a été détectée.

Wang *et al.* (2015) ont étudié les niveaux de concentration et les déterminants possibles des PBDE dans les poussières intérieures (SHD) de logements urbains d'enfants d'âge préscolaire résidant à Nanjing, en Chine. Les effets neurodéveloppementaux possibles suite à l'exposition à des poussières intérieures de PBDE ont également été explorés. Les SHD ont été recueillies dans 216 logements. Le développement des enfants a été évalué. La plupart des PBDE ont été trouvés à des niveaux significativement plus importants à l'intérieur des logements que dans la poussière extérieure (p < 0,05). Après ajustement, une augmentation des taux de BDE-209 et de PBDE totaux était associée à des risques importants de problèmes de comportement et des quotients inférieurs de développement (DQs) social. Les BDE-99 et BDE-153 seraient impliqués dans la diminution des DQs sociaux.

Lopez-Espinosa *et al.* (2015) ont étudié la relation entre PBDE et croissance fœtale ou du nouveau-né dans une cohorte en Espagne (2003-2008). Les concentrations de PBDE (BDE-47, 99, 153, 154 et 209) ont été mesurées dans le sérum de 670 mères à la douzième semaine de gestation et dans 534 échantillons de cordon ombilical. La circonférence abdominale (AC), une estimation du poids foetal (EFW), la longueur du fémur (FL), et le diamètre bipariétal (BPD) pendant la gestation ont été mesurés. À la naissance, le poids (BW), la circonférence de la tête (HC), et la longueur (BL) ont également été mesurés. Des associations inverses statistiquement significatives entre Σ PBDEs et AC, EFW et BPD aux semaines 20-34 et HC à la naissance ont été observées. En ce qui concerne les congénères, l'association était plus évidente avec le BDE-99, avec des associations inverses trouvées avec AC, EFW et BPD aux semaines 20-34, et avec BW et HC à l'accouchement. Ces facteurs ont diminué entre 1,3% et 3,5% pour chaque augmentation de 2 fois de concentration de PBDE. En ce qui concerne les matrices, les auteurs ont trouvé des associations inversement significatives avec les BPD, HC et BW lors de l'utilisation du sérum maternel et avec AC et EFW lors de l'utilisation du sang de cordon.

Adgent *et al.* (2014) ont évalué les associations entre les concentrations de PBDE dans le lait maternel, le comportement et les aptitudes cognitives dans une étude prospective de 304 paires mère-enfant. Les taux de PBDE dans le lait maternel ont été évalués 3 mois après l'accouchement. À 36 mois, le comportement des enfants (n = 192) ainsi que les capacités cognitives (n = 184) ont été étudiés. Les BDE-28, 47, 99, 100 et 153 ont été détectés dans plus de 70% des échantillons de lait. Pour chaque congénère, le quartile le plus élevé de la

concentration en PBDE du lait maternel, par rapport au plus bas, a été associé à un comportement plus anxieux, après ajustement. Certains congénères étaient associés à une augmentation de la fréquence des comportements de retrait (BDE-28) et des activités quotidiennes (BDE-153). Les aptitudes cognitives ont tendance à être positivement associées aux PBDE, en particulier le langage et la motricité fine. Cependant, selon les auteurs, la plupart de ces associations n'étaient pas robustes i.

Chen *et al.* (2014) ont examiné le lien entre exposition *in utero* aux PBDE et développement cognitif et comportemental dans une cohorte de naissance prospective nord américaine. Les concentrations sériques maternelles de BDE-47 et d'autres PBDE ont été mesurées chez 309 femmes à 16 semaines de gestation entre 2003 et 2006. Les capacités cognitives et motrices de leurs enfants ont été évaluées en utilisant des échelles de développement à 1 an, 2 et 3 ans, 5 ans ; le comportement des enfants a été évalué chaque année entre 2 et 5 ans. Après ajustement, la concentration prénatale en BDE-47 n'était pas significativement associée au développement mental ou psychomoteur entre 1 et 3 ans, mais une augmentation 10 fois supérieure du taux prénatal de BDE-47 était associée à une diminution de 4,5 points (IC_{95%} [-8,8 ; -0,1]) du QI et une augmentation de 3,3 points (IC_{95%} [0,3 ; 6,3]) du score d'hyperactivité à l'âge de 5 ans.

Rasinger *et al.* (2014) ont évalué si un régime alimentaire à base de poissons enrichis avec des polluants organiques persistants (POP), affectait l'expression des protéines et des gènes impliqués dans la maturation du cerveau de la souris. Des souris juvéniles femelles Balb/C (22 jours d'âge) ont été exposées pendant 28 jours à des régimes enrichis en dioxine 2,3,7,8-tétrachlorodibenzodioxine (TCDD) ou à des produits non-dioxine like (NDL) tels que l'HBCDD, le BDE-47, le CB-153 à des doses se rapprochant de leurs plus bas niveaux d'effets nocifs observés respectifs (LOAEL). Tous les polluants organiques persistants ont provoqué des changements dans les profils d'expression des gènes et des protéines neuronales. L'analyse bioinformatique des données d'expression des gènes a mis en évidence l'importance du récepteur aux hydrocarbures aromatiques (AHR) dans la toxicité de la dioxine et a révélé que la régulation de zinc dans le cerveau est ciblée par TCDD *via* l'AHR. L'homéostasie calcique a été affectée à la fois par TCDD et les produits chimiques NDL. Contrairement à l'analyse transcriptomique, les données protéomiques ne permettaient pas une distinction claire entre les réponses DL et NDL dans le cerveau juvénile, mais ont indiqué que les protéines associées à l'excitotoxicité ont été affectées dans tous les groupes exposés. Cette étude a montré que les contaminants alimentaires étudiés passent la barrière hémato-encéphalique (BHE) et s'accumulent dans le cerveau juvénile où ils peuvent induire des agents excitotoxiques par modifications des homéostasies étroitement contrôlées du calcium et du zinc.

L'objectif de Gascon *et al.* (2012) était d'examiner l'association entre les concentrations de PBDE dans le colostrum et le développement neuropsychique du nourrisson et d'évaluer l'influence de polluants organiques persistants (POP), dont les PBDE, sur cette association. Ont été mesurées les concentrations de PBDE dans 290 échantillons de colostrum de femmes recrutées dans une cohorte de naissance en Espagne. Le développement mental et psychomoteur du nourrisson a été évalué à 12-18 mois. Les taux de la somme des sept PBDE les plus courants (BDE-47, 99, 100, 153, 154, 183 et 209) et de chaque congénère isolé ont été analysés. Une augmentation des concentrations de $\Sigma 7$ PBDEs était associée de façon significative à une diminution des scores de développement mental (β par log ng/g de lipides = -2,25 ; IC_{95%} [-4,75 ; 0,26]). Le BDE-209, congénère aux concentrations les plus élevées, semblait être le congénère principal responsable de cette association (β = -2,40 ; IC_{95%} [-4,79 ; -0,01]). Après ajustement pour d'autres POP, l'association du BDE-209 avec le score de développement mental est devenue légèrement plus faible (β = -2,10, IC_{95%} [-4,66 ; 0,46]).

Hoffman *et al.* (2012) ont étudié l'association entre taux de PBDE (BDE-28, 47, 99, 100, et 153) dans le lait maternel et développement social et émotionnel chez de jeunes enfants, sur la base des études *Pregnancy Infection and Nutrition (PIN) and PIN Babies*, cohorte de femmes enceintes/enfants en Caroline du Nord (USA) suivie pendant 36 mois. Les échantillons de lait maternel ont été analysés 3 mois après l'accouchement. Après ajustement, une légère association positive a été détectée entre le taux de BDE-47, 99 et 100, et les comportements d'hyperactivité et d'impulsivité. Les scores d'extériorisation variaient entre 30 et 87 avec une moyenne de 47,8. Par rapport aux enfants aux concentrations inférieures à la médiane en BDE-47, les scores d'extériorisation ajustés étaient de 1,6 (IC_{95%} [-1.2 ; 4.4]) et de 2,8 (IC_{95%} [-0,1 ; 5,7]) points de plus pour les enfants nés de femmes ayant des concentrations dans le lait maternel respectivement dans les 3^e et 4^e quartiles.

Chao *et al.* (2011) ont réalisé une revue d'études antérieures, dans lesquelles 14 PBDE ont été recherchés dans 70 échantillons de lait maternel. Le neurodéveloppement infantile à l'âge de 8-12 mois, des nourrissons et des tout-petits avait été évalué. La somme des 14 concentrations de PBDE n'était pas corrélée avec les scores cognitifs, de langage, de développement moteur, sociaux-émotionnel, ou aux échelles de comportement adaptatif. Une association significative inverse entre BDE-209 et échelle cognitive a été détectée après analyses de régression linéaire multivariées ($\beta = -0,007$, R ajusté = -0,224, $p = 0,032$). En revanche, l'échelle du langage était positivement corrélée au BDE-196 ($\beta = 0,096$, R ajusté = 0,315, $p = 0,002$).

Li *et al.* (2010) ont étudié une cohorte de 35 nourrissons allaités recrutés à un an. 11 PBDE (BDE-47, 99, 100, 153, 154, 196, 197, 206, 207, 208 et 209) ont été dosés dans le lait maternel. Le développement du nourrisson et de l'enfant en bas âge a été déterminé en utilisant les échelles de Bayley. Les taux les plus élevés de somme de PBDEs dans le lait maternel étaient significativement corrélés aux scores inférieurs sur l'échelle cognitive ($r = -0,369$, $p = 0,029$). L'augmentation de la somme des taux de PBDEs était significativement liée à une diminution des résultats sur l'échelle du comportement adaptatif ($p = 0,017$). Après ajustement et régression logistique, l'odds ratio (OR) (OR = 0,966, $p = 0,035$) du score cognitif chez les nourrissons avec une concentration en BDE-100 $\geq 75^{\text{e}}$ percentile était significativement plus faible par rapport au groupe témoin (BDE-100 < 75%). Les nourrissons avec des taux de BDE-207, 208, et 209 $\geq 75\%$ (OR = 0,802 à 0,818, $p = 0,043$ à 0,047) avaient des ORs ajustés significativement inférieurs pour les comportements adaptatifs par rapport aux groupes témoins.

Etudes chez l'animal

Byun *et al.* (2015) ont examiné les effets épigénétiques liés à une exposition périnatale au BDE-47, congénère le plus répandu en Amérique du Nord, dans le lobe frontal de rats Wistar. Les rats ont été gavés avec du BDE-47 (0,002 et 0,2 mg.kg⁻¹ de poids corporel) aux jours de gestation 9 et 16, et aux jours postnataux 1, 8 et 15. Les lobes frontaux de la progéniture au jour postnatal 41 ont été recueillis pour mesurer la 5-méthylcytosine (5mC) dans les gènes mitochondriaux du cytochrome c oxydase (Mt-co1, Mt-co2, et Mt-co3), le contenu global nucléaire en 5-hydroxyméthylcytosine (5hmC), la 5mC dans les éléments répétitifs L1Rn et la 5mC dans des gènes nucléaires (Bdnf, Crhr1, Mc2r, Nr3c1, et Snca) impliqués dans les fonctions comportementales et cérébrales. Une diminution significative de 5mC dans Mt-co2 a été observée, ainsi qu'une diminution de 5mC dans les éléments répétitifs L1Rn pour un traitement à 0,002 mg.kg⁻¹ de BDE-47. Une diminution de la 5mC nucléaire a été observée dans les gènes Bdnf et Nr3c1 chez les rats exposés au BDE-47. Cependant, aucun effet significatif de la toxicité des PBDE sur la méthylation de l'ADN pour la majorité des gènes du cerveau n'a été observé.

Hendriks HS *et al.* (2015) ont étudié les effets de l'exposition néonatale au TBBPA sur la plasticité synaptique dans l'hippocampe de souris. Des souris C57BL / 6 ont reçu une dose orale unique de 211 pmol.kg⁻¹ de poids corporel de TBBPA le DPN 10. Le DPN 17-19, les effets sur la plasticité synaptique hippocampique ont été étudiés. En outre, les auteurs ont mesuré les taux de protéines postsynaptiques impliqués dans la potentialisation à long terme (LTP) ainsi que les concentrations du TBBPA dans les tissus du cerveau, les muscles et le foie. Le TBBPA a induit des effets mineurs sur LTP. En outre, le TBBPA a induit une diminution mineure de la potentialisation post-tétanique. En dépit de ces effets, l'expression de certaines protéines synaptiques impliquées dans LTP n'a pas été affectée. Le TBBPA ne pouvait pas être mesuré en quantités importantes dans le cerveau, ce qui suggère une faible biodisponibilité et / ou une élimination / métabolisme rapide.

Miller-Rhodes-P *et al.* (2014) ont examiné les effets neurocomportementaux sur la descendance à long terme de rates gravides exposées au stade prénatal à 0, 3, 10 ou 30 mg.kg⁻¹ d'HBCDD depuis le premier jour de gestation 1 jusqu'à la parturition. De nombreux paramètres ont été mesurés pour observer les comportements des nouveaux-nés. La réponse locomotrice et la réactivité ont été examinées dans des cohortes de jeunes adultes et de rats âgés. L'exposition au HBCDD était associée à une réactivité accrue des nerfs moteurs chez les nouveaux-nés, une diminution de la force de préhension chez les rats juvéniles, et une altération de l'attention soutenue chez les rats âgés. En outre, l'exposition au HBCDD a été associée à une augmentation significative de la morbidité dans la cohorte des animaux âgés. Des complications de santé, une perte progressive des fonctions des membres postérieurs, n'ont été observées que chez les animaux âgés, traités avec 3 mg.kg⁻¹ d'HBCDD.

L'objectif principal de l'enquête de Reverte *et al.* (2014) était d'évaluer si une exposition au BDE-209 avait une incidence sur le neurodéveloppement de souris transgéniques de différents polymorphismes apoE (E2, E3 et E4). Ils ont utilisé une batterie d'observations fonctionnelles pour évaluer la maturation physique et neuromotrice des souris. Au 10^{ème} jour postnatal, le BDE-209 a été administré par voie orale à 0, 10 et 30 mg.kg⁻¹ et le neurodéveloppement a été étudié jusqu'au 36^{ème} jour postnatal. Un retard subtil dans l'ouverture des yeux a été observé chez les souris apoE4. L'exposition à la dose la plus élevée de BDE-209 était associée à un retard de l'ouverture des yeux des souris apoE2, mais aucun autre effet sur le développement n'a été observé. Les résultats indiquent quelques effets du BDE-209 au cours du développement, tandis que la vulnérabilité conférée par le génotype ApoE pourrait varier selon l'âge.

Reverte *et al.* (2014) ont évalué les effets à long terme de l'exposition précoce au BDE-209 sur l'anxiété, l'apprentissage de la peur et les taux d'hormones thyroïdiennes chez les souris de différents polymorphismes d'apoE (E2, E3 et E4). Le BDE-209 (0, 10 et 30 mg.kg⁻¹) a été administré par voie orale le DPN 10. L'exposition postnatale au BDE-209 perturbe les signaux de conditionnement à la peur chez les souris apoE2 et apoE3. Les niveaux d'hormones thyroïdiennes chez les souris apoE3 exposées au BDE-209 étaient augmentés. Ces résultats indiquent l'existence d'effets durables du BDE-209 sur les niveaux d'apprentissage et émotionnels et sur les taux d'hormones thyroïdiennes après une exposition postnatale unique.

Zhao *et al.* (2014) ont évalué les effets de l'exposition à de faibles niveaux de concentration de MeHg (2,0 µg .mL⁻¹ dans l'eau potable) et de BDE-99 (0,2 mg.kg⁻¹ /d) depuis le 6^{ème} jour de gestation au DPN 21 de rats Offspring, seul et en combinaison, sur le développement, les réponses redox et neurocomportementales. Une coexposition entre le MeHg et le BDE-99 à faibles doses a eu des effets sur le développement de la descendance: apparition tardive des réflexes de géotaxie négative, de la coordination motrice, induction de stress oxydatif dans le cervelet par modification de l'activité de différentes enzymes antioxydantes et production de radicaux libres. La rétention de mercure n'a pas été affectée par la co-

exposition au BDE-99. Cependant, la co-exposition au MeHg semblait augmenter les concentrations en BDE-99 dans les régions cérébrales sélectionnées chez les petits par rapport à ceux exposés seulement au BDE-99.

Tseng *et al.* (2013) ont étudié les effets d'une exposition prénatale au BDE-209 sur le sperme de descendants mâles de souris CD-1 enceintes gavées quotidiennement avec de l'huile de maïs (contrôle), et avec 10, 500 et 1500 mg.kg⁻¹ de BDE-209 du jour du début de la gestation 0 au 17^{ème} jour. Les résultats des paramètres reproducteurs mâles ont été évalués le DPN 71. La distance anogénitale, des anomalies des têtes de spermatozoïdes, et des anomalies des tissus testiculaires ont été observées chez les descendants mâles exposés avant la naissance à 1500 mg.kg⁻¹. Des augmentations significatives d'induction de la tendance à la dénaturation de l'ADN du sperme (aT) et de l'index de fragmentation (DFI) de l'ADN ont été observées chez ceux exposés à 10, 500 et 1500 mg.kg⁻¹ (p < 0,05). Les auteurs ont observé une augmentation significative de la production d'H₂O₂ dans les groupes traités à 10 et 1500 mg/kg/jour par rapport au groupe témoin (p < 0,05). Bien que ces résultats suggèrent que les mécanismes sous-jacents des dommages de l'ADN spermatique induits par le BDE-209 et la génération d'H₂O₂ pourraient ne pas être dose-dépendants, il a été constaté que plus la production d'H₂O₂ spermatique était importante, plus l'aT des spermatozoïdes (r = 0,65, P = 0,0155) et la DFI (r = 0,53, P = 0,002) était augmentée.

Zhang *et al.* (2013) ont étudié les effets de l'exposition au BDE-153 pendant la période de lactation sur les taux d'enzymes calcium dépendantes dans les cellules corticales cérébrales de rats adultes. 40 rats nouveaux-nés mâles ont été divisés en quatre groupes en fonction de leur poids corporel et nourris le DPN10 à 1, 5 et 10 mg.kg⁻¹ de BDE-153 ; un groupe témoin était nourri à l'huile d'olive. Deux mois plus tard, ces rats ont été décapités. La concentration en Ca²⁺ dans les cellules de cortex cérébral a été mesurée ainsi que les activités de la calcineurine (CAN) et des enzymes Ca²⁺- Mg²⁺ ATP dépendantes. L'expression d'ARNm et des protéines de la calpaïne 1 et 2 a été également mesurée. Les groupes traités au BDE-153 à 1, 5 et 10 mg.kg⁻¹ avaient des concentrations intercellulaires de Ca²⁺ nettement inférieures à celles du groupe témoin (p < 0,05). Les activités de la CAN, des enzymes Ca²⁺- Mg²⁺ ATP dépendantes, de l'ARNm et de l'expression des protéines de la calpaïne-1 n'ont montré aucune différence significative entre les groupes 1, 5 et 10 mg.kg⁻¹ de BDE-153 et le groupe témoin (p > 0,05). L'augmentation de l'expression de la protéine de la calpaïne-2 était liée à l'augmentation de la dose de BDE-153. Par rapport au groupe témoin, les groupes traités à 5 et 10 mg.kg⁻¹ de BDE-153 avaient une expression de l'ARNm de la calpaïne-2 significativement plus élevée (groupe 5 mg.kg⁻¹ BDE-153 : 1,16 ± 0,52 ; groupe 10 mg.kg⁻¹ BDE-153 : 1,32 ± 0,23) et une expression de la protéine de la calpaïne-2 significativement plus élevée (groupe 5 mg.kg⁻¹ BDE-153 : 0,31 ± 0,07 ; groupe 10 mg.kg⁻¹ BDE-153 : 0,37 ± 0,06) (p < 0,05). Le groupe traité par 10 mg.kg⁻¹ de BDE-153 avait une expression de la protéine de la calpaïne-2 significativement plus élevée que le groupe traité à 1 mg.kg⁻¹ de BDE-153 (0,37 ± 0,06 vs 0,22 ± 0,07, p < 0,05).

Zhang H *et al.* (2013) ont étudié les effets d'une exposition au BDE-153 chez des bébés rats pendant la lactation sur les capacités d'apprentissage, de mémoire, le comportement spontané. Des bébés rats mâles nouveaux-nés ont été classés de façon aléatoire dans des groupes (15 petits par groupe), en fonction de leurs poids et des portées : un groupe témoin, et des groupes exposés à 1 mg.kg⁻¹, 5 mg.kg⁻¹ et 10 mg.kg⁻¹ de BDE-153. Au DPN10, les petits dans les groupes ont été traités par voie intrapéritonéale au BDE-153, et le groupe témoin avec de l'huile végétale. A 1 et 2 mois après traitement, les capacités d'apprentissage, de mémoire et de comportement spontané des rats ont été testées. Il n'y a eu aucun changement évident dans l'alimentation, la consommation d'eau, le poids corporel et le rapport cerveau/poids corporel, ou de symptômes cliniques manifestes chez les rats traités au BDE-153. Par rapport au groupe contrôle, le temps de latence des rats dans le step-down test a été augmenté de façon significative dans le groupe à 10 mg.kg⁻¹ BDE-153

2 mois après le traitement ($p < 0,05$), et les temps et distances de natation des rats traités par BDE-153 dans le quadrant cible étaient significativement diminués à 1 et 2 mois après le traitement ($p < 0,05$ ou $p < 0,01$). Ces paramètres ont également augmenté de façon significative dans le quadrant opposé, 1 mois après le traitement ($p < 0,05$ ou $p < 0,01$). Le comportement spontané a été significativement réduit dans les groupes traités par rapport aux témoins ($p < 0,05$ ou $p < 0,01$). La sévérité du dysfonctionnement du comportement neurologique dépendait de la dose d'exposition du BDE-153 et empirait avec l'âge. Sous microscope optique, les neurones des rats traités dans la région CA3 de l'hippocampe étaient réduits et perturbés, les jonctions cellulaires assouplies et les espaces intercellulaires agrandis. Le noyau cellulaire semblait être rétréci; la chromatine était condensée et près de la membrane nucléaire, les corps de Nissl et d'autres organites dans le pericaryon étaient réduits, et la vacuole de dégénérescence semblait dégénérer voire disparaître. En outre, par rapport aux témoins, les taux d'apoptose des cellules étaient significativement augmentés dans les groupes traités par 5 et 10 mg.kg^{-1} de BDE-153 ($p < 0,05$), et l'activité de la LDH augmentée de façon significative dans les groupes traités par 10 mg.kg^{-1} BDE-153 ($p < 0,01$).

Dans l'étude de Blanco *et al.* (2012), des rats Sprague-Dawley gravides ont été exposés par voie orale à 0 ; 0,5 ; 1 et 2 mg/kg/jour au BDE-99 du jour de la gestation (GD) 6 au GD 19. Tous les rats ont été euthanasiés le GD 20 : le sexe, le poids corporel, les malformations externes, internes et squelettiques et les variations de développement des fœtus vivants ont été évalués. L'exposition au BDE-99 au cours de la période de gestation a produit un retard d'ossification, une légère hypertrophie du cœur, et une hypertrophie du foie chez les fœtus. Un effet transplacentaire du BDE-99, mis en évidence par l'activation des récepteurs aux hormones nucléaires qui induisent une régulation positive des CYP1A1, CYP1A2, CYP2B1 et des isoformes CYP3A2, a également été observé dans le foie fœtal. L'induction de ces isoformes est corrélée avec l'activité de l'enzyme catalase et les concentrations de substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique. Cependant, des effets tératogènes liés à une exposition au BDE-99 n'ont pas été observés.

Fair *et al.* (2012) ont examiné les effets hématologiques, thyroïdiens, histologiques et immunologiques du mélange penta-BDE commercial, DE-71, chez des souris adultes femelles B(6) C(3) F(1). Les souris ont été exposées par gavage pendant 28 jours à 0 ; 0,5 ; 5 ; 50 ou 100 mg.kg^{-1} . Aucun changement dans le poids, les paramètres biologiques, histologiques et cliniques, le corps ou les organes n'a été observé. Les niveaux sériques de T3 et T4 totales n'ont pas été modifiés. Le nombre de monocytes du sang périphérique a été réduit aux doses de 0,5 ; 5 et 50 mg.kg^{-1} de traitements mais pas à 100 mg.kg^{-1} . Par rapport aux témoins, la prolifération cellulaire des lymphocytes T et B a été augmentée par le traitement à 100 mg.kg^{-1} . L'activité des cellules NK a diminué par rapport aux témoins par le traitement à 100 mg.kg^{-1} . Aucune altération n'a été observée dans les populations de lymphocytes T thymiques ou dans la production spécifique d'IgM SRBC. Le nombre de cellules spléniques CD4 (+) CD8 (+) a diminué par rapport aux contrôles pour des doses de traitement à 0,5 ; 5 et 100 mg.kg^{-1} .

Heredia *et al.* (2012) ont examiné les effets d'une exposition subaiguë par voie orale au BDE-209 sur des jeunes souris adultes consanguines type sauvage Tg2576. Le BDE-209 a été administré par gavage aux doses de 0 et 20 mg/kg/jour pendant 15 jours. Deux paramètres comportementaux ont été examinés : l'anxiété et l'apprentissage de la mémoire spatiale. Les jeunes souris adultes exposées au BDE-209 ont montré une réduction des niveaux d'anxiété et un retard d'apprentissage de la mémoire spatiale.

Dans l'étude de Koenig *et al.* (2012) des souris C57BL/6J ont été exposées pendant la période périnatale à 0,03 ; 0,1 ou 1 mg/kg/jour de BDE-47. Les niveaux de BDE-47 ont été mesurés dans le sang, le cerveau, la graisse et le lait maternel et dans l'homogénat fœtal

entier et le cerveau des bébés le jour de gestation (GD) 15, et les DPN 1, 10 et 21. Du GD 15 à DPN 1, le niveau de BDE-47 a augmenté dans les tissus des femelles, puis a diminué des DPN 1 à 21. Au cours de la période de lactation les niveaux dans le lait maternel étaient relativement élevés par rapport à ceux dans le cerveau et le sang pour tous les groupes de dose. Des niveaux mesurables de BDE-47 ont été trouvés dans le fœtus au GD 15 confirmant l'exposition gestationnelle. Des DPNs 1 à 21, les niveaux de BDE-47 dans le tissu des descendants ont augmenté au cours de la période de lactation en raison du transfert du BDE-47 par le lait. Des tests comportementaux de la fonction de motricité fine, de l'apprentissage et de la mémoire ont été effectués entre les semaines postnatales 5-17 afin d'évaluer la toxicité neurocomportementale du BDE-47. Des déficits comportementaux n'ont été observés que pour les souris exposées ; elles présentaient des temps de latences et des distances plus longues pour trouver le trou d'échappement dans le test de labyrinthe par rapport aux souris contrôles.

Saegusa *et al.* (2012) ont étudié l'impact et la réversibilité des effets du TBBPA, de l'HBCDD et du DBDE sur le développement neuronal et sur l'apoptose dans la zone subgranulaire du gyrus denté de l'hippocampe de rats. Des rats Sprague-Dawley gravides ont été exposés à 10, 100 ou 1000 ppm de décabromodiphényle éther (DBDE) et 100, 1000 ou 10 000 ppm de TBBPA ou d'HBCDD dans leur régime alimentaire du jour de gestation 10 jusqu'au jour 20 après sevrage. Au jour DPN 20, une augmentation des cellules productrices de la protéine reeline dans le hile du gyrus denté (hippocampe) a été observée avec tous les produits, suggérant une modification de la migration neuronale. Cependant, cette augmentation avait disparu le DPN 77. Une augmentation des neurones positifs NeuN dans le hile a été observée le DPN 77 avec tous les produits chimiques. Dans la zone subgranulaire le DPN 20, une augmentation des corps apoptotiques suggérant une altération de la neurogenèse a été observée après exposition au TBBPA ou à l'HBCDD. Les effets sur le développement neuronal ont été détectés à des doses ≥ 100 ppm de DBDE, ≥ 1000 ppm de TBBPA et à moins de 10000 ppm d'HBCDD. Le DPN 20, la plus forte dose de DBDE et d'HBCDD a révélé des fluctuations modérées des concentrations sériques d'hormones thyroïdiennes évoquant une faible hypothyroïdie de développement, alors que le TBBPA n'avait pas cet effet. Ainsi, le DBDE et le TBBPA pourraient exercer un effet direct sur le développement des neurones dans le cerveau, mais l'hypothyroïdie devrait être étudiée pour des expositions aux DBDE et HBCDDs à des doses élevées.

L'objectif de l'étude de Suvorov *et al.* (2011) était de dépister les effets à long terme sur l'expression des gènes dans le cerveau de rats Wistar exposés au BDE-47. Les femelles ont été exposées au BDE-47 (0,002 et 0,2 mg.kg⁻¹ de poids corporel) du jour de gestation 15 au jour post-natal (PND) 20. L'ARN total a été extrait de l'ensemble du cerveau à PND 10 et des lobes cérébraux frontaux à PND 41. A PND 41, des groupes de gènes impliqués dans l'impulsion de la transmission nerveuse, le développement et le fonctionnement du système nerveux, et le processus de biosynthèse de base ont été modifiés, y compris plusieurs gènes régulés à la baisse liés à des canaux cationiques. L'expression de l'ARN LINE1 a été diminuée de manière significative. Les manifestations comportementales et l'expression des gènes impliqués dans le neurodéveloppement ont été altérées au moins 3 semaines après la dernière exposition à une faible dose de BDE-47.

Ta *et al.* (2011) ont évalué les effets neurocomportementaux chez des souris C57BL/6J exposées à du BDE-47 aux doses quotidiennes de 0 ; 0,03 ; 0,1 ou 1 mg.kg⁻¹ 4 semaines avant la conception, lors de la gestation et la lactation, jusqu'au sevrage le jour postnatal (DPN) 21. Les niveaux de BDE-47 dans le sang, les tissus du cerveau, le foie et les tissus adipeux des femelles ont été nettement augmentés après 4 semaines d'exposition au moment de l'accouplement, et ont continué d'augmenter lors de la parturition. Les taux sanguins de BDE-47 dans les femelles se situaient dans la fourchette des doses chez l'homme. Les niveaux de BDE-47 des tissus de la progéniture ont diminué entre la

parturition et le sevrage, reflétant peut-être un passage pendant la lactation. Les niveaux de BDE-47 dans le cerveau de la progéniture à DPN 1 approchaient ceux des femelles à la parturition. L'exposition périnatale au BDE-47 a entraîné un retard de croissance de la progéniture significatif dose dépendant ; les performances motrices étaient ralenties dans plusieurs tests de comportement.

Viberg *et al.* (2011) ont examiné les niveaux de quatre protéines impliquées dans la maturation du cerveau, la croissance neuronale et la synaptogenèse, ainsi que les densités des deux récepteurs cholinergiques après administration de TBBPA marqué au C¹⁴. Les niveaux de TBBPA ont atteint leur maximum plus tôt et ont diminué plus rapidement que les niveaux rapportés antérieurs de BDE-99. L'analyse des protéines dans le cerveau du nouveau-né a montré des changements dans les niveaux de protéine kinase II Ca²⁺/calmoduline-dépendantes (CaMKII), de protéine associée à la croissance 43 (GAP-43) et de synaptophysine suite à une exposition néonatale au BDE-99 (21 pmol.kg⁻¹ de poids corporel). En outre, l'exposition néonatale aux BDE-99 et au TBBPA a provoqué une diminution des sites de liaison de la cytosine, ligand nicotinique, dans le cortex frontal.

Dans l'étude de Wang *et al.* (2011), afin de déterminer si une interaction existait entre SPFO et BDE-47 sur les voies médiées par les hormones thyroïdiennes (TH), des rats Wistar femelles adultes ont été exposés à 3,2 et 32 mg.kg⁻¹ de SPFO ou BDE-47 dans leur régime alimentaire et co-exposés à une combinaison de chaque produit chimique (3,2 mg.kg⁻¹) à partir du jour de gestation 1 au DPN 14. Le sérum et le cerveau des tissus des nouveau-nés mâles et femelles ont été recueillis les PNDs 1, 7, et 14 pour examiner le gène TH et l'expression des protéines liées. Les résultats ont montré une différence d'accumulation significative entre les deux produits. De plus, les BDE-47 et le PFOS affectaient les concentrations en triiodothyronine sériques totales et thyroxine totales de façon différente chez les adultes et leur progéniture ; des altérations des concentrations de TH selon les régions et les temps d'exposition ainsi que des niveaux d'expression des gènes et des protéines différentes ont été observées ; l'effet de la combinaison de l'exposition aux deux produits n'a été observé que pour le BDNF : effet synergique au DPN 1 dans le cortex et effet antagoniste au DPN 14 dans l'hippocampe.

Belles *et al.* (2010) ont évalué les dommages oxydatifs dans le cerveau et les effets comportementaux induits par l'exposition au BDE-99 chez des rats mâles adultes (10/groupe) exposés au BDE-99 par gavage à des doses uniques de 0 ; 0,6 ou 1,2 mg/kg/poids corporel. Quarante-cinq jours après l'exposition, des tests comportementaux ont été effectués. Par ailleurs, le cortex, l'hippocampe et le cervelet ont été examinés afin d'examiner les marqueurs oxydatifs suivants : glutathion réduit (GSH), glutathion oxydé (GSSG), glutathion réductase (GR), glutathion peroxydase (GPx), glutathion-S-transférase (TPS), superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT) et substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS). Dans le cervelet, le BDE-99 a diminué de manière significative les activités de SOD, CAT et des GR à la dose la plus élevée de BDE-99. Une diminution des activités de CAT et SOD a également été observée respectivement dans le cortex et l'hippocampe. Ces résultats montrent que la capacité antioxydante du cerveau est affectée par l'exposition au BDE-99, principalement dans le cervelet.

Liang *et al.* (2010) ont étudié les effets neurotoxiques directs du BDE-209 sur des souris CD-1 Swiss exposées quotidiennement à différentes concentrations de (0 ; 0,1 ; 40 ; 80 et 160mg.kg⁻¹ de poids corporel/j), par gavage pendant 15, 30 et 60 jours. Le poids corporel et du cerveau ainsi que les capacités de réparation spontanées après exposition ont été étudiés. Les niveaux d'expression de l'acétylcholinestérase, de la superoxyde dismutase et du malondialdéhyde (enzymes cholinergiques) dans le cerveau étaient modifiés de façon permanente.

Lilienthal *et al.* (2010) ont résumé les effets neurotoxiques du BDE-99, du TBBPA, et de l'HBCDD. L'effet le plus important du BDE-99 était la féminisation du comportement sexuel chez la progéniture mâle après exposition maternelle. Une exposition au long terme au TBBPA a augmenté les seuils des potentiels évoqués auditifs (PEAP) dans le tronc cérébral de la progéniture femelle et prolongé les temps de latence de la dernière onde IV dans les deux sexes. Une altération sur un test de comportement dopamine-dépendant dans la progéniture femelle exposée à l'HBCDD et une élévation des seuils de PEAP chez les mâles exposés ont été observées.

Etudes *in vitro*

Costa *et al.* (2015) ont étudié les effets du BDE-47 sur des neurones granulaires de cervelet de souris *in vitro*. L'administration de BDE-47, selon un protocole d'exposition connu pour induire des altérations comportementales et biochimiques (10 mg.kg⁻¹, *per os* le jour post-natal 10), induit un stress oxydatif et augmente l'apoptose, sans modifier les niveaux sériques d'hormones thyroïdiennes. Les effets du BDE-47 *in vitro* et *in vivo* ont été plus prononcés dans un modèle de souris déficientes pour la sous-unité de modification de la glutamate cystéine ligase qui se traduit par une réduction des capacités antioxydantes en raison de faibles taux de la forme réduite du glutathion. Les concentrations de BDE-47 dans le cerveau étaient de l'ordre du nanomolaire.

Roberts *et al.* (2015) ont étudié les effets de plusieurs congénères individuels de PBDE et de leurs métabolites hydroxylés (OH-BDE) sur l'activité de la protéine DIO2 dans les astrocytes, cellules spécialisées dans la production de plus de 50% de la T3 requise par le cerveau. Des astrocytes primaires humains et des cellules de gliome H4 ont été exposés aux PBDE individuels ou OH-BDE à des concentrations allant jusqu'à 5 µM. Le BDE-99 a entraîné une diminution de l'activité de DIO2 de 50% dans les cellules primaires astrocytaires et jusqu'à 80% dans les cellules H4 aux doses ≥ 500 nm. Les 3-OH-BDE-47, 6-OH-BDE-47, et 5'-OH-BDE-99 ont également diminué l'activité de la DIO2 de 45-80% dans les cellules H4 de gliome exposées à des doses d'environ 1-5 µM. Plusieurs mécanismes semblent contribuer à la diminution de l'activité de DIO2, y compris la diminution de l'expression de l'ARNm de DIO2, l'inhibition compétitive de DIO2, et le renforcement de la dégradation post-translationnelle de DIO2.

Roelofs *et al.* (2015) ont évalué les effets possibles du BPA, du bisphénol F (BPF), du bisphénol S (BPS), ainsi que du TBBPA sur les glucocorticoïdes humains et l'activation du récepteur des androgènes (GR et AR) sur des cellules de Leydig MA-10. Les BPA, BPF et TBBPA ont montré clairement un antagonisme des GR et AR avec des valeurs respectives d'IC₅₀ de 67 µM, 60 µm, et 22 nm pour GR et 39 µM, 20 µM, et 982 µM pour AR. En outre, les cellules de Leydig MA-10 de souris exposées aux analogues de type bisphénol ont subi des changements de sécrétion des taux d'hormones stéroïdes. La stéroïdogénèse testiculaire a été modifiée par tous les analogues de bisphénol testés. Les effets du TBBPA ont été plus marqués sur les molécules de synthèse terminales et l'induction de la synthèse de testostérone. L'essai sur des cellules de Leydig MA-10 montre une valeur ajoutée par rapport à l'essai de stéroïdogénèse largement utilisé H295R, en raison de ses caractéristiques fœtales-like et de sa spécificité physiologiquement plus pertinente sur la voie de stéroïdogénèse δ4 testiculaire.

Zieminska *et al.* (2015) ont évalué le rôle des récepteurs de ryanodine (de RyRs) et des récepteurs NMDA (NMDAR) dans les variations de Ca²⁺ et la cytotoxicité induite dans les neurones par le tétrabromobisphénol A (TBBPA). Des cultures primaires de cellules granulaires du cervelet (CCG) de rat ont été exposées à 7,5 ; 10 ou 25 pM de TBBPA pendant 30 min, et la viabilité cellulaire a été évaluée après 24 h. Par ailleurs, l'absorption de

^{45}Ca et les variations de la concentration intracellulaire de Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) ont été étudiées en utilisant la sonde Fluo-3. Les résultats montrent que le TBBPA induit de façon concentration-dépendante une augmentation du $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Cet effet a été partiellement réduit par des inhibiteurs de RyRs et de NMDARs lorsqu'ils sont administrés séparément, et complètement abrogé par leur administration combinée. Une activation concentration-dépendante de ^{45}Ca par l'administration de TBBPA a été empêchée par le MK-801, mais pas par des inhibiteurs des RyRs. L'exposition à du TBBPA ≥ 10 μM réduit de façon concentration-dépendante la viabilité neuronale ; cet effet n'a été que partiellement réduit lorsque des antagonistes NMDAR et RyR étaient donnés séparément ou en combinaison.

Gassmann et al. (2014) ont étudié les effets du BDE-47 et du 6-OH-BDE-47 sur $[\text{Ca}^{2+}]_i$ dans des cellules progénitrices humaines neuronales (hNPCs) et les voies de signalisation impliquées. Afin de déterminer les effets possibles sur $[\text{Ca}^{2+}]_i$, les hNPCs différenciées ont été exposées à court terme au BDE-47, au 6-OH-BDE-47, et à de multiples inhibiteurs/stimulateurs des voies de signalisation potentiellement impliquées dans l'homéostasie calcique. La caractérisation initiale des voies de signalisation a confirmé le stade précoce de développement des hNPCs. Dans ces cellules, le BDE-47 (2 μM) et le 6-OH-BDE-47 (0,2 μM) induisent des fluctuations des $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Cette augmentation de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ est due à un afflux extracellulaire et à la libération intracellulaire de Ca^{2+} à partir du réticulum endoplasmique (RE). Tandis que le Ca^{2+} extracellulaire semble pénétrer dans le cytoplasme en interférant avec la membrane cellulaire et indépendamment des canaux ioniques Ca^{2+} , le Ca^{2+} dérivé du RE est libéré après activation de la protéine lipase C et du récepteur inositol 1,4,5-triphosphate, mais indépendamment des récepteurs de ryanodine. Ces données soutiennent la possibilité d'une fenêtre critique d'exposition aux PBDE, à savoir, le développement précoce du cerveau humain.

Hendriks *et al.* (2014) ont étudié *in vitro* la (neuro) toxicité de 13 retardateurs de flamme non halogénés et de trois RFB sur des cellules dopaminergiques de phéochromocytome (PC12) et de neuroblastome (B35). Les effets sur la viabilité cellulaire, la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) ainsi que sur l'homéostasie calcique ont été mesurés. La plupart des retardateurs de flamme testés ont induit une cytotoxicité négligeable. Une part considérable de retardateurs de flamme a affecté la production de ROS, dont le BDE-209. Le TBBPA et d'autres composés ont réduit l'augmentation de la dépolarisation provoquée par le $[\text{Ca}^{2+}]_i$ par inhibition de canaux calciques voltage-dépendants.

Huang *et al.* (2014) ont développé un système de criblage transcriptionnel à haute capacité du gène CYP2A6 et évalué les effets de quatre composés oestrogéniques (dont le BDE-47) et de trois phytoestrogènes sur la transcription du gène CYP2A6. Trois plasmides rapporteurs de luciférase ont été construits. Un dosage couplé à la luciférase a été effectué après 48 heures de traitement par différents composés oestrogéniques, dont le BDE-47, le bisphénol (BPA), et d'autres composés. Parmi les produits chimiques testés, le BDE-47 était d'un intérêt particulier avec une induction importante de l'activité de transcription du CYP2A6 de $1,45 \pm 0,13$ à $3,30 \pm 0,13$ ($p < 0,01$) correspondant à des concentrations allant de 1,0 à 100 nmol.L^{-1} .

Park *et al.* (2014) ont étudié l'activation des voies inflammatoires par le TBBPA (cytokines et production de prostaglandines), dans le premier trimestre sur une lignée cellulaire de placenta humain HTR-8/SVneo. Le TBBPA a augmenté la libération d'IL-6, IL-8, et de prostaglandine E2, et supprimé la libération de TGF- β dans les cellules HTR-8/SVneo. La concentration efficace la plus faible était de 10 μM de TBBPA.

Song *et al.* (2014) ont appliqué une approche protéomique pour étudier les effets du BDE-209 et/ou du BDE-47 sur l'expression de protéines extraites de cellules souches/progénitrices neurales et explorer les mécanismes de toxicité neurodéveloppementale. 3-4

génération de cellules souches/progénitrices neurales ont été exposées à du BDE-209 et/ou BDE-47. Après une exposition de 72 heures, un total de 39 taches de protéines exprimées a été identifiées sur un gel à 2 dimensions après exposition au BDE-209 et/ou BDE-47 dans les cellules souches/progénitrices neurales, et 19 protéines différentiellement exprimées ont été identifiées (spectrométrie de masse couplée). L'expression de deux protéines particulières (colifine-1 et vimentine) a diminué lorsque les cellules souches/progénitrices neurales ont été exposées au BDE-209 ; elles étaient absentes lors de l'exposition à la fois au BDE-47 et au BDE-209.

Su *et al.* (2014) ont évalué les effets d'une irradiation naturelle par la lumière du soleil (SI) sur le BDE-209. Ils ont irradié des hépatocytes embryonnaires de poulet (CEHs) pendant 36 heures à des concentrations de SI et non irradiée (NI) de BDE-209 afin d'identifier les effets sur la cytotoxicité et sur les niveaux d'expression d'ARNm de gènes sélectionnés. Les effets cytotoxiques n'ont été observés que chez CEHs exposées à 50 μM SI-BDE-209. Les résultats d'un modèle de polymérase ont montré que NI-BDE-209, jusqu'à des concentrations maximales de 9 μM , n'a provoqué que des changements limités des niveaux d'ARNm de 27 gènes en lien avec le métabolisme de phase I/II, les voies des hormones thyroïdiennes, le métabolisme des lipides/cholestérol, le stress oxydatif, la réponse immunitaire et la mort cellulaire. En revanche, 14 des 27 gènes ont été modifiés après une exposition à 10 μM SI-BDE-209. Les niveaux d'ARNm du récepteur aux hydrocarbures aromatiques (AhR) concernant la CYP1A4 ont été les plus modifiés sur la matrice PCR avec une induction de 2500 et 2300 fois après exposition à 1 ou 10 μM SI-BDE-209. Dans l'ensemble, la dégradation du BDE-209 par la lumière naturelle génère des sous-produits qui affectent l'expression de gènes *in vitro*, en particulier le CYP1A4 médié par l'expression de l'AhR.

Molina-Molina *et al.* (2013) ont étudié les interactions du BPS, BPF, BPA et de ses dérivés halogénés, tétrachlorobisphénol A (TCBPA) et tétrabromobisphénol A (TBBPA), avec les récepteurs des œstrogènes humains (hER α et hER β), le récepteur des androgènes (hAR), et récepteur pregnane X (hPXR), en utilisant un panel de tests biologiques *in vitro* sur la base de liaison compétitive aux récepteurs nucléaires (RN), l'expression d'un gène rapporteur, et l'évaluation de la prolifération cellulaire. Seuls les BPA, TCBPA et TBBPA, étaient des agonistes hPXR (TCBPA > TBBPA > BPA). Le TBBPA n'a pas montré d'effets sur les autres récepteurs.

Hendriks *et al.* (2012) ont mesuré les effets des retardateurs de flamme bromés sur les récepteurs nACh sur des ovocytes de *Xenopus*. Les résultats démontrent que le TBBPA et, dans une moindre mesure, le BDE-209, agissent comme des antagonistes des récepteurs nACh.

Hendriks *et al.* (2012) ont étudié les effets du TBBPA sur ces récepteurs, exprimés dans des ovocytes de *Xenopus*, en utilisant la technique de voltage-clamp à deux électrodes. Les résultats démontrent que le TBBPA agit comme agoniste total ($\geq 10 \mu\text{M}$) et partiel ($\geq 0,1 \mu\text{M}$) sur les récepteurs GABAA humains, alors qu'il agit comme antagoniste ($\geq 10 \text{ M}$) sur les récepteurs nACh $\alpha 4\beta 2$ humains. Ensuite, des cellules B35 neuronales ont été utilisées pour étudier les effets du TBBPA sur les récepteurs nACh perméables au calcium. Ces résultats démontrent que le TBBPA ($\geq 1 \text{ pM}$) inhibe les récepteurs à l'acétylcholine (ACh) comme le montre une diminution de l'augmentation de la concentration de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ provoquée par l'acétylcholine. En outre, le TBBPA ($> 1 \mu\text{M}$) a induit une forte augmentation concentration-dépendante de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ de base dans les cellules B35. De même, le TBBPA ($> 1 \text{ pM}$) augmente la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ de base dans des cellules PC12 dopaminergique. Cette augmentation est également observée dans des conditions sans Ca^{2+} , ce qui indique qu'il provient de réserves intracellulaires. En outre, les dépolarisations provoquées par des augmentations de

[Ca²⁺], sont fortement réduites par le TBBPA ($\geq 1 \mu\text{M}$), ce qui indique une inhibition induite par le TBBPA des canaux calciques voltage-dépendants.

Woods *et al.* (2012) ont utilisé une souche mutante de souris *Mecp2* [*Mecp2* (308)] avec des défauts de comportement social pour explorer les effets à long terme de l'exposition aux PBDE sur un modèle génétiquement et épigénétiquement sensible. Les femelles *Mecp2* (308/+) ont été périnatalement exposées quotidiennement au BDE-47 et se sont reproduites avec des mâles de type sauvage C57BL/6J. Les paramètres développementaux, génétiques et épigénétiques de la progéniture ont été examinés. Une exposition périnatale au BDE-47 aurait un impact négatif sur la fertilité des femelles *Mecp2* (308/+) et le poids des femelles sevrées. Une hypométhylation globale de l'ADN du cerveau adulte a été observée en particulier dans la période périnatale de la progéniture des femelles exposées au BDE-47 et coïncidait avec une réduction de la sociabilité de manière indépendante du génotype. Une inversion de l'interaction du génotype *Mecp2* avec l'exposition au BDE-47 a été observée dans un test de mémoire à court terme de changement social qui correspondait à des niveaux accrus de *Dnmt3a* spécifiquement dans la progéniture des femelles *Mecp2*(308/+) exposées. En revanche, l'apprentissage et la mémoire à long terme ont été altérés par l'exposition au BDE-47 dans la progéniture des femelles *Mecp2* (308/+).

Dishaw *et al.* (2011) ont évalué la neurotoxicité du BDE-47, composant majeur du Penta-BDE, et d'autres composés. Le BDE-47 n'a eu aucun effet sur le nombre de cellules, la croissance cellulaire ou la croissance des neurites.

Kim *et al.* (2011) ont cherché à définir la relation structure-activité (SAR) de la neurotoxicité entre les PBDE, leurs métabolites et les récepteurs de la ryanodine de type 1 (RyR1) et de type 2 (RyR2). Les auteurs ont analysé les sites de liaison de la [3H] ryanodine, les flux de Ca²⁺ microsomaux, mesuré les variations cellulaires du Ca²⁺, et la neurotoxicité afin de définir les mécanismes et la spécificité des perturbations des taux de Ca²⁺ induites par les PBDE. Les PBDEs possédant deux substituants bromés en ortho sans au moins un substituant bromé en para (par exemple, le BDE-49) activent RyR1 et RyR2 avec une plus grande efficacité que les congénères ayant deux substituants bromés en para (par exemple, le BDE-47). L'addition d'un groupe méthoxy en position para réduit l'activité des PBDE parents. Les BDE hydroxylés 6-OH-BDE-47 et 4'-OH-BDE-49 sont des modulateurs biphasiques des RyR. Un pré-traitement des cellules HEK293 avec du BDE-49 (250 nM) (dérivées de cellules de rein embryonnaires humaines) exprimant soit RyR1 ou RyR2 a modifié les flux de Ca²⁺ déclenchés par des agonistes RyR, tandis que le BDE-47 (250 nM) a eu une activité négligeable.

Hu *et al.* (2011) ont testé le potentiel de modulation des récepteurs d'androgènes, d'estrogènes ou de l'hormone thyroïdienne (AR, ER, THR) des 2'-MeO-BDE-68 et 6-MeO-BDE-47. Le 2'-MeO-BDE-68 était antiandrogène à 50 μM , oestrogénique à 10 μM et antiestrogénique à 10 et 50 μM ($\text{CI}_{50} = 4,88 \mu\text{M}$). Le 2'-MeO-BDE-68 augmentait l'expression de T3 à 50 μM . Le 6-MeO-BDE-47 présentait une activité antiandrogénique puissante à partir de 1 μM ($\text{IC}_{50} = 41,8 \text{ pM}$), une activité oestrogénique à 10 μM et une activité anti-oestrogénique à 10 et 50 μM ($\text{CI}_{50} = 6,02 \mu\text{M}$).

Ibzhazhebo *et al.* (2011) se sont intéressés aux effets du HBCDD sur une culture de cellules granulaires de cervelet de rat purifié. L'HBCDD à faible dose (10^{-10} M) supprimait de manière significative l'extension des neurites des agrégats de cellules granulaires induite par les hormones thyroïdiennes. Afin de comprendre les mécanismes de cette suppression, du BDNF a été ajouté dans le milieu de culture. Le BDNF a complètement restauré l'extension des neurites des cellules granulaires en présence de T3.

Christen *et al.* (2010) ont analysé l'activité androgène et anti-androgène *in vitro* du TBBPA, de l'HBCDD, du BDE-100, du BDE-155 et d'autres composés sur la lignée cellulaire MDA-KB2. Soit une faible soit aucune activité androgénique n'a été observée pour tous les composés testés. Le TBBPA a montré une faible activité anti-androgénique, démontrée pour la première fois. L'HBCDD, BDE-100 et BDE-155 ont augmenté l'activation dépendante de la dihydrotestostérone de l'expression du gène du récepteur sensible aux androgènes, mais ne présentaient que peu ou pas d'activité agoniste. Cette augmentation a atteint 150%.

Schreiber *et al.* (2010) ont étudié l'implication des hormones thyroïdiennes (TH) sur la neurotoxicité des PBDE. Ils ont exposé des cellules primaires progénitrices neuronales foetales humaines (hNPCs) aux BDE-47 et BDE-99 (0,1-10 μ M). Les PBDE n'ont pas perturbé la prolifération des hNPCs mais diminué la distance de migration des hNPCs. De plus, ils provoquent une diminution de la différenciation des neurones et des oligodendrocytes. L'exposition simultanée avec le récepteur TH (THR) et l'agoniste triiodothyronine restaure cette migration et cette différenciation, alors que l'antagoniste THR NH-3 n'exerce pas d'effet. Les PBDE perturbent le développement des hNPCs *in vitro* par la perturbation de la signalisation cellulaire TH à des concentrations qui pourraient être pertinentes pour l'exposition humaine.

Suvorov *et al.* (2010) ont examiné les effets et les mécanismes de toxicité du BDE-47 en analysant le profil d'expression de gènes de rats exposés à des doses comparables à l'exposition humaine. Des femelles Wistar ont été exposées par injection à des véhicules ou à du BDE-47 (0,002 et 0,2 mg.kg^{-1} de poids corporel) tous les cinq jours du jour de gestation 15 à 20 jours après la naissance. L'ARN total a été extrait à partir du foie des petits et hybridé à l'ensemble de l'expression du génome d'ARN de micro-réseaux.

L'expression des protéines de familles oxydoréductases et transférases était augmentée chez des rats exposés de même que le métabolisme des glucides, le transport des électrons, et le métabolisme des stéroïdes, des lipides et des acides gras. Quatre voies de signalisation (cascades d'activation d'enzymes de métabolisation) et dix voies métaboliques ont été considérablement activées. Les enzymes métabolisant les médicaments semblent être régulées par le BDE-47 grâce à un mécanisme indépendant du récepteur aux hydrocarbures aromatiques. L'interaction directe avec le récepteur X des rétinoïdes ou *via* une cascade en amont pourrait être impliquée. Les principaux effets métaboliques consistaient en l'activation des voies métaboliques d'oxydation alpha et oméga- des acides gras, de la glycolyse et d'hydrolyse de l'amidon.

Zhang *et al.* (2010) ont étudié les effets du BDE-209 sur la régulation de la prolifération et de l'apoptose des cellules souches neurales (NSC) cultivées et exposées à différentes concentrations de BDE-209 et déterminé les modifications des protéines sous-jacentes. Les niveaux de facteur nucléaire kappa B (NF-kB), l'expression des protéines caspase-3 associées à l'apoptose, de phosphorylation des kinases régulées par un signal extracellulaire (ERK), et des protéines kinase c-Jun N-terminale (JNK) ont été analysés. Les résultats indiquent que le BDE-209 a diminué la prolifération des NSC suivant un mode concentration-dépendant. Le BDE-209 a induit l'activation de NF-kB ; cependant, les niveaux d'expression des protéines de phosphorylation JNK1/2 (p-JNK1/2) et ERK1/2 (p-ERK1/2) n'ont pas été modifiés. En outre, le BDE-209 augmentait les niveaux d'apoptose et de protéines caspase 3 clivées, alors que l'inhibiteur pyrrolidine dithiocarbamate du NF-kB atténuait l'apoptose induite par le BDE-209.

2.5.6. Hépatotoxicité

Principales conclusions de l'EFSA sur l'hépatotoxicité des PBDE (2011)

Le foie est l'organe cible des PBDE. Les principaux effets hépatiques observés sont une hépatomégalie, une hypertrophie hépatocellulaire et des vacuolisations. De plus, les PBDE induisent les enzymes du métabolisme hépatiques des xénobiotiques ainsi que les enzymes responsables de la glucuronidation des hormones thyroïdiennes. Les PBDE semblent également induire un stress oxydant au niveau hépatique.

Principales conclusions de l'EFSA sur l'hépatotoxicité des HBCDD (2011)

De plus, les HBCDD induisent les enzymes du métabolisme hépatiques des xénobiotiques. Le foie est l'organe cible des HBCDD (Germer *et al.*, 2006), incluant la glucuronidation de la T4, une hépatomégalie qui sont observés après une exposition de 28 jours (Van der Ven *et al.* 2006).

Etudes épidémiologiques

Aucune étude n'a été identifiée.

Etudes chez l'animal

Curcic *et al.* (2015) ont évalué l'hépatotoxicité et la dose cible du BDE-209 sur des rats Wistar après exposition subaiguë par voie orale. Les effets ont été examinés sur des rats pesant 200-240 g, exposés aux doses de 1 000, 2000 ou 4000 BDE-209 mg.kg⁻¹ de poids corporel (pc)/jour par gavage pendant 28 jours. L'évaluation de l'effet hépatotoxique était fondée sur la prise de poids d'eau et de nourriture relatifs du foie, les paramètres biochimiques reflète de la fonction hépatique [mesure enzymatique de l'AST, l'ALT, l'ALP et des γ GT], les paramètres de stress oxydatif dans des homogénats de foie [(MDA), la SOD, -SH] et les changements morphologiques et histopathologiques hépatiques.

Après exposition à 1000, 2000 ou 4000 mg.kg⁻¹ de poids corporel/jour, les concentrations de BDE-209 mesurées dans le foie étaient respectivement de 0,269, 0,569 et 0,859 mg.kg⁻¹ de poids humide de foie, (ww). Les doses internes étaient corrélées aux doses externes ($r = 0,972$; $p < 0,05$). L'hépatotoxicité a été démontrée sur la base d'une augmentation significative des activités d'AST et γ GT et des changements histopathologiques.

L'étude de Sueyoshi *et al.* (2014) sur des souris CAR (-/-) et PXR (-/-) et des hépatocytes primaires humains visait à démontrer que le BDE-47 activait à la fois le récepteur nucléaire CAR humain et de souris. Dans le foie des souris, CAR, mais pas PXR, était responsable d'une induction d'ARNm du CYP2B10 par le BDE-47. Dans les hépatocytes primaires humains, le BDE-47 était capable d'induire la translocation du CAR (mesurée par fluorescence) du cytoplasme vers le noyau et les expressions d'ARNm des CYP2B6 et CYP3A4. Le BDE-47 activait le CAR humain d'une manière analogue au ligand CAR humain CITCO dans des essais utilisant un gène rapporteur. En revanche, le CAR de souris n'a pas été puissamment activé par le BDE-47 dans les mêmes essais. En outre, le récepteur pregnane X humain (RPX) a effectivement été activé par le BDE-47 tandis que le PXR de souris a été faiblement activé dans des essais utilisant la luciférase comme marqueur.

Maranghi *et al.* (2013) ont comparé les effets de l'HBCDD, du BDE-47, PCB-153 et TCDD chez des souris femelles juvéniles exposées à un régime à base de saumon pendant 28 jours (doses alimentaires : HBCDD 199 mg.kg⁻¹ de poids corporel/jour; BDE-47 450 pg.kg⁻¹ de poids corporel/jour; PCB-153 195 mg.kg⁻¹ pc/jour; TCDD 90 ng.kg⁻¹ de poids corporel/jour). Les niveaux de doses étaient comparables aux NOAEL. Tous les composés ont provoqué des changements dans le foie, le thymus et la thyroïde ; la rate a été affectée par le BDE-47; les effets les plus forts dans les follicules thyroïdiens ont été provoqués par le PCB-153, dans le thymus et le foie par le BDE-47.

Choi *et al.* (2011) ont examiné la toxicité dose-dépendante du TBBPA chez des rats Sprague-Dawley prépubères mâles (jour postnatal 18) traités par voie orale à 0, 125, 250 ou

500 mg.kg⁻¹ pendant 30 jours. Il n'y avait aucune différence dans le poids corporel entre le contrôle et les groupes traités au TBBPA. Cependant, une augmentation significative des poids absolus et relatifs du foie des groupes traités aux doses élevées de TBBPA a été observée. Le traitement par le TBBPA conduit à une induction significative de CYP2B1 et de l'expression du *constitutive androstane receptor* (CAR) hépatique. En outre, la concentration sérique de T4, a été significativement réduite dans le groupe traité par le TBBPA. Le TBBPA produit des espèces réactives de l'oxygène (ROS) par induction du CYP2B1 chez le rat. Les auteurs ont observé une augmentation de la 8-hydroxy-2'-désoxyguanosine (8-OHdG), un marqueur de d'altération de l'ADN par oxydation, dans les reins, le foie et les testicules de rats après traitement au TBBPA.

L'étude de Lee *et al.* (2010) a évalué la toxicité du BDE-209 sur des rats mâles Sprague-Dawley exposés à un véhicule ou à du BDE-209 (100, 300 ou 600 mg.kg⁻¹ de poids corporel par jour) à partir du jour post-natal (PND) 10 au PND 42. Ils n'ont pas observé d'effet sur les organes de reproduction. Cependant, le foie, la thyroïde et le poids des glandes surrénales ont été significativement augmentés dans le groupe exposé aux doses élevées de BDE-209. La concentration totale de sérum de T3 a été significativement réduite de façon dose dépendante, alors que le niveau de l'hormone stimulant la thyroïde a significativement augmenté après traitement par du BDE-209. Histologiquement parlant, de multiples zones de dégénérescence et une légère atteinte de l'épithélium folliculaire ont été observées dans la glande thyroïde pour des doses élevées (300 et 600 mg.kg⁻¹) de traitement.

Une autre étude chez le rat (Alonso *et al.*, 2010) a montré une augmentation de l'excrétion des protéines urinaires 45 jours après une administration orale unique de BDE-99 aux doses de 0, 0.6 et 1.2 mg.kg⁻¹ pc/j et une diminution des LDH, GGT et NAG. Une toxicité hépatique objectivée par une augmentation des GOT, GPT et ALP a été observée. Des marqueurs d'une toxicité érythrocytaire ont été également rapportés (réduction GR, augmentation SOD), ainsi qu'une augmentation de l'isoprostane urinaire. Concernant les concentrations hormonales, une diminution significative de la testostérone et de la progestérone a également été observée. Ces résultats sont en faveur d'une toxicité rénale, hépatique et sanguine du BDE-99 ainsi que d'une perturbation hormonale.

3.7 Données d'écotoxicité

Occurrence dans l'environnement

La présence de retardateurs de flamme polybromés a été documentée sur un ensemble important de milieux de la planète et dans tous les compartiments. Les propriétés physico-chimiques des composés entraînent une présence importante dans le compartiment sol et sédiment représentant 75% des masses distribuées contre près de 25% dans l'eau et des quantités marginales dans l'air (Ineris, 2013). Cette large distribution est associée à de forts tonnages, un transport sur de longues distances et à une forte persistance des composés. Les dosages de PBDE sur des carottes sédimentaires témoignent de la persistance des composés puisqu'ils sont quantifiés sur des horizons de plus de trente ans. Ainsi, les carottes sédimentaires prélevées en baie de Sydney montrent des valeurs minimales dans les années 1970 puis une forte élévation des concentrations depuis les années 1990 jusqu'en 2014 (Drage *et al.*, 2015).

Les espèces vivantes des différents compartiments semblent en retour largement exposées aux PBDE. La surveillance de la contamination des côtes françaises par dosages dans les mollusques filtreurs permet une quantification des huit composés polybromés recherchés sur 100% des échantillons prélevés (Munsch, 2016).

Réglementation :

Les PBDE (penta-BDE : 28, 47, 99, 100, 153, 154) font partie des substances dangereuses prioritaires inscrites dans la directive cadre européenne sur l'eau (CE, 2013). Ils sont ciblés par la Directive Cadre Stratégie Milieu Marin (DCSMM) et la commission Oskar sur le milieu marin « en vue d'une action prioritaire » et identifiés parmi les 23 polluants organiques persistants (POP) devant être éliminés par la convention de Stockholm du programme des Nations Unies pour l'environnement (mélanges tétra- à hepta-bromés).

Dans le cadre de la réglementation européenne, des normes de qualité environnementales (NQE) ont été définies. Pour le compartiment eau, la NQE du pentabromodiphényléther et de l'hexabromocyclododécane est de, respectivement, 140 et 500 ng/L pour les eaux de surface et de 14 et 50 ng/L pour les eaux estuariennes et côtières. Pour le compartiment vivant (biote), la NQE poisson pour la somme des BDE28, -47, -99, -100, -153 et -154 est de 8,5 ng/kg (EC, 2013).

Il est remarquable que ces normes soient largement dépassées dans certains milieux pour les PBDE. Ainsi, en estuaire de Seine, la concentration dans des poissons benthiques (flet, *Platichthys flesus*) excède d'un facteur supérieur à 100 la norme environnementale (Abarnou, 2008) tandis que les concentrations mesurées dans le poulamon (*Microgadus tomcod*) et l'anguille (*Anguilla rostrata*) du Saint Laurent (Canada) se situent à un facteur encore 10 au-dessus du flet de Seine (Law *et al.*, 2003). La concentration la plus importante a été mesurée dans une population de chauve-souris, *Myotis lucifugus* (13 mg/kg de lipides, Kannan *et al.*, 2010).

Effets sur l'axe thyroïdien et le développement

Les recherches d'effets et de mécanismes d'actions chez les espèces sauvages sont limitées à un nombre très restreint d'espèces. Les associations PBDE et effets toxicologiques présentent une dominante axe thyroïdien marquée. L'ours polaire, *Ursus maritimus*, est l'organisme le plus contaminé en organohalogénés de l'Arctique et ces composés sont généralement associés à une altération du système thyroïdien (Villanger *et al.*, 2011...). Diezt et collaborateurs (2015) ont calculé un risque à partir du concept de dose corporelle critique et des mesures des principaux composés organiques halogénés associés à un modèle de distribution PBPK. Parmi les organohalogénés, les auteurs estiment que les PBDE ne contribuent que pour 0,01 % au risque de perturbation du système reproducteur, immunotoxique et génotoxique évalué. Les mesures de concentrations plasmatiques d'hormones T3 et T4 et de déiodinases chez les ours du Groenland et du Svalbard ne sont pas corrélées avec les concentrations de PBDE plasmatiques et seule une association entre contamination plasmatique et les altérations de la déiodinase 1 est apparente (Gabrielsen *et al.*, 2015).

Chez la crécerelle (*Falco sparverius*), aucune modification significative des taux plasmatiques en T3 et T4 n'est observée après exposition réaliste au mélange DE-71 (Marteinson *et al.*, 2011) ou aux congénères BDE-47, -99, -100 et -153 (Ferne *et al.*, 2005). De même les concentrations en Vitamine A ne sont pas significativement affectées (Marteinson *et al.*, 2011). Chez la sterne (*Sturnus vulgaris*), aucune relation n'a pu être établie entre les variations de T4, T3 (de la mère ou des oisillons), le succès reproducteur (ponte et éclosion), le comportement parental (nombre de visites) ou l'indice de condition et les concentrations de PBDE (somme de 46 composés) mesurées dans les œufs (Eng *et al.*, 2014).

Concernant les amphibiens, Balch et collaborateurs (2006) rapportent que le mélange de PBDE (DE-71) engendre une extension de la durée de métamorphose de *Xenopus laevis* ainsi qu'une inhibition de la résorption caudale lorsque les organismes sont exposés à 1 mg/g via leur alimentation (une dose non environnementale). Le mélange BDE-85R, engendre une altération histologique des follicules thyroïdiens caractérisée par une augmentation de la hauteur de l'épithélium, un accroissement du follicule et une déplétion partielle du colloïde après exposition à 1 µg/L (Qin *et al.*, 2010). Ces modifications

histologiques ne sont pas observées chez *X. tropicalis* à 1 mg/g après exposition aux composés individuels BDE-47 et BDE-99 (exposition par voie alimentaire) et un retard de métamorphose est obtenu pour le seul BDE-99 à 1 mg/g mais associé à une toxicité générale (Carlsson *et al*, 2007).

Les résultats expérimentaux obtenus chez les poissons concernant la recherche et la compréhension des effets sur l'axe thyroïdien montrent une variabilité importante. Ainsi, les niveaux hormonaux circulants (T3, T4) sont soit élevés, non modifiés ou diminués après exposition aux PBDE. Cette variabilité de réponse peut avoir de nombreux déterminants, incluant les congénères testés, leurs concentrations, les voies et durées d'exposition, les stades de développement ou reproducteur des poissons ou les espèces utilisées. Une diminution des taux de T4 circulants semble être le paramètre le plus consistant et rapporté pour plusieurs espèces, *Pimephales promelas*, *Salvelinus namaycush*, *crucian carp* et, dans une seule étude parmi un ensemble de travaux effectués sur le poisson zèbre, *Danio rerio* (Lema *et al*, 2008 ; Tomy *et al*, 2004 ; Song *et al*, 2012 ; Yu *et al*, 2014). Cette disparité est aussi présente dans les niveaux d'expression des gènes associés à la régulation de l'axe. Ainsi les transcrits de *crh* et *tsh* peuvent être régulés positivement (Yu *et al*, 2011) ou négativement (Chen *et al*, 2012) chez le poisson zèbre en présence du mélange de PBDE, DE-71. De même l'histologie des follicules thyroïdiens est affectée, avec augmentation de l'épaisseur de l'épithélium folliculaire et déplétion de la partie colloïdale chez le vairon américain, *P. promelas* (Noyes *et al*, 2011) tandis qu'aucune modification n'est observée chez le poisson zèbre (Torres *et al*, 2012).

Des retards de développement ainsi que des malformations cardiaques sont observés chez les embryons de *D. rerio* dès 1 µg/L de OH-BDE-47 (Usenko *et al*, 2012). Ces retards de développement et les déformations crâniennes ne sont plus observés après micro injection d'ARNm de TR au stade à 1-2 cellules (Macaulay *et al*, 2015).

Davies et Zou (2012) ont examiné les effets de plusieurs PBDE parmi les plus répandus sur la mue du cladocère, *Daphnia magna*, et ont mis en évidence que le congénère BDE-47 était capable de retarder significativement la mue. Gismondi et Thome (2014) ont évalué les effets de BDE-47 et -99 sur les enzymes chitinolytiques de *Gammarus pulex*. Cette étude indique que les deux congénères inhibent l'expression et l'activité de la chitobiase dès 0,1 µg/L chez les amphipodes femelles. Le mécanisme d'inhibition de mue a été exploré chez *Uca pugilator* (Booth *et al*, 2016). Les auteurs ont développé un modèle *ex vivo* épithélium-exosquelette permettant d'étudier l'activation de transcription de la chitobiase sous l'action de la 20-HE. Bien que les niveaux des contrôles positifs subissent de très fortes variations entre expérimentations, les résultats semblent montrer que la chitobiase est induite de façon comparable par les ecdystéroïdes et par l'exposition à 100 nM de BDE-47 (mais pas 1 µM).

Effets sur l'axe reproducteur

Une analyse de corrélation par analyse en composantes principales a été menée à partir de prélèvements sanguins chez 15 femelles d'ours polaires (*U. maritimus*) du Groenland et du Svalbard afin d'étudier les relations entre la présence de PBDE circulants (trois BDE et 5 hydroxy-BDE) et les concentrations plasmatiques en huit stéroïdes (Gustavson *et al*, 2015). Aucune corrélation significative n'a pu être observée.

Chez la crécerelle (*Falco sparverius*), aucune modification significative des taux plasmatiques en testostérone n'a été observée après exposition réaliste au mélange DE-71 mais une augmentation de la masse des testicules et du nombre de tubules séminifères a été mesurée après deux ans (Marteinson *et al*, 2011). Cependant, l'exposition au mélange DE-71 engendre un retard de ponte et la production d'œufs de taille réduite (Fernie *et al*, 2009). Chez l'étourneau européen, *S. vulgaris*, exposé par implantation sous-cutanée de 150 mg de penta-BDE/oiseau, aucune différence significative du délai de ponte, du nombre d'œufs produits n'a pu être observé mais la taille des œufs était plus importante pour le groupe exposé (Van den Steen *et al*, 2009). Le mélange de PBDE (DE-71) engendre une réduction significative et dose-dépendante des concentrations plasmatiques de E2 chez les

poissons zèbre femelles et, inversement, une hausse des concentrations de 11k-T dès 5 ng/L (Han *et al*, 2011). Ces résultats ont été associés soit à une stimulation de la gamétogénèse (Han *et al*, 2012), soit à une diminution de la gamétogénèse chez les deux sexes après analyses histologiques (Yu *et al*, 2014). Une altération de la spermatogénèse est rapportée par plusieurs études après exposition au BDE-47, à des mélanges de PBDE ou au BDE-209 chez (respectivement) *P. promelas*, *D. rerio* et *Gobiocypris rarus* conduisant à une diminution de la densité spermatique et du succès de fertilisation (Muirhead *et al*, 2006 ; He *et al*, 2011 ; Li *et al*, 2011). Chez les femelles, les analyses histologiques révèlent, selon les travaux, des inhibitions, aucun effet ou des activations de l'ovogénèse tandis que la baisse de production d'œufs est généralement rapportée (Muirhead *et al*, 2006 ; Kuiper *et al*, 2008 ; Yu *et al*, 2014).



4 Annexes

Annexe 1 : BMDL construites par l'EFSA (en anglais).

PBDE (2011)

Of the eight PBDE congeners (BDE-28, 47, 99, 100, 153, 154, 183 and 209) considered by the CONTAM Panel to be of primary interest for dietary exposure, relevant toxicity data were only available for BDE-47, 99, 153 and 209. Therefore a risk assessment could only be carried out for these four individual PBDE congeners. Based on the information on the effects on the thyroid hormones homeostasis, neurobehaviour and effects on sperm quality and reproductive performance in animal experiments the CONTAM Panel derived benchmark doses (BMDs) and their corresponding lower 95% confidence limit, the BMDLs, for the most sensitive effects of the various individual PBDE congeners. Not all studies appeared to be useful for a dose-response analysis. In its assessment, the CONTAM Panel chose a benchmark response (BMR) of 10% to avoid extrapolation beyond the observable range (EFSA, 2009). In addition, the evaluation was restricted to studies with oral administration.

The lowest BMD10 and BMDL10 for the critical effects are presented in Figure 6.

BMD10 and BMDL10 values for critical effects for individual PBDE congeners and body burden at BMDL10 based on external doses of single administration studies.

Congener	Critical endpoint	BMD ₁₀ µg/kg b.w.	BMDL ₁₀ µg/kg b.w.	Body burden at BMDL ₁₀ µg/kg b.w.	Reference
BDE-47	Mice, locomotion	338	309	232	Eriksson et al., 2001
BDE-99	Mice, total activity	22	12	9	Viberg et al., 2004b
	Rat, locomotion	116	82	Not used	Kuriyama et al., 2005
BDE-153	Mice, total activity	107	83	62	Viberg et al., 2003
BDE-209	Mice, total activity	3,200	1,700	<i>No body burden calculated</i>	Viberg et al., 2007
	Mice, T4 reduction	11,500	6,800	<i>No body burden calculated</i>	Rice et al., 2007

Figure 2. Lowest BMD10 and BMDL10 for the critical effects (EFSA, 2011)

The body burden provides a more appropriate dose metric for a direct comparison of internal effect doses in animals and in humans. Body burdens corresponding with effects of the various PBDEs in rodents, even resulting from studies with different dose regimens (e.g. single vs. repeated administration), can readily be transformed into estimated human daily intakes that on a chronic basis would be expected to lead to similar body burdens in humans. For BDE-209 the half-life in animals and humans is similar, and therefore the external dose level (BMDL10) as obtained from animal studies can be applied for the human health risk assessment.

These body burden values at the BMDL10 for BDE-47, 99 and 153 could in principle be used as the basis to derive a human health based guidance value, e.g. a tolerable daily intake. The CONTAM Panel concluded, however, that due to the limitations and uncertainties in the current data base on PBDEs, the derivation of a health based guidance value was not appropriate. Instead, the Panel used a margin of exposure (MOE) approach for the risk characterization of PBDE congeners.

TBBPA (2013)

The CONTAM Panel concluded that the critical effect of TBBPA was on circulating thyroid hormone (T4) in female and male rats. Lowest reliable BMDL10 values of 16 and 30 mg.kg⁻¹ b.w. per day, respectively, were identified from a 28-day study (van der Ven et al., 2008). The Panel decided to use the BMDL10 of 16 mg.kg⁻¹ b.w. as the critical reference point.

There is no large discrepancy between the elimination kinetics of TBBPA in humans compared to rodents. As a consequence, exposure to similar external doses of TBBPA most probably will result in similar concentrations in the human body as in the rodent. Therefore, the use of external dose levels of TBBPA associated with toxic effects in animals can be used for the risk assessment in humans.

The BMDL10 of 16 mg.kg⁻¹ b.w. for changes in circulating thyroid hormone levels could in principle be used as the basis to derive a human health based guidance value, e.g. a tolerable daily intake.

HBCDD (2011)

For the BMDL10 of 0.93 mg.kg⁻¹ b.w. for effects on behavior in mice after single oral administration and assuming an absorbed fraction of 0.85 the corresponding body burden would be about 0.79 mg.kg⁻¹ b.w. The CONTAM Panel noted that studies with repeated administration would have resulted in considerably higher body burdens.

The body burden of 0.79 mg.kg⁻¹ b.w. could in principle be used as the basis to derive a human health based guidance value, e.g. a tolerable daily intake. The CONTAM Panel concluded, however, that due to the limitations and uncertainties in the current data base on HBCDDs, the derivation of a health based guidance value was not appropriate. Instead, the Panel used a margin of exposure (MOE) approach for the risk characterisation of HBCDDs.

Annexe 2

Sélection des résumés des articles par congénère et par mot clé

Tableau 8. Tableau récapitulatif de la recherche bibliographique par congénère avec le mot clé « reproduction » sur la période 2010-2015

	BDE-28	BDE-47	BDE-99	BDE-100	BDE-153	BDE-154	BDE-183	BDE-209	HBCDD	TBBPA
Doublons avec recherches précédentes	5	6	2	4	3	3	1	2	0	0
Publications pertinentes pour le GT	0	1	2	0	0	0	0	1	0	3
Publications non pertinentes pour le GT										
Hors sujet (HS)	4	15	9	11	1	5	2	11	6	1

Tableau 9. Tableau récapitulatif de la recherche bibliographique par congénère avec le mot clé "thyroid" sur la période 2010-2015

	BDE-28	BDE-47	BDE-99	BDE-100	BDE-153	BDE-154	BDE-183	BDE-209	HBCDD	TBBPA
Doublons avec recherches précédentes	7	10	3	9	13	8	5	0	0	2
Publications pertinentes pour le GT	4	12	13	1	0	1	0	5	4	4
Publications non pertinentes pour le GT										
HS	8	20	21	6	6	4	3	4	3	12

Tableau 10. Tableau récapitulatif de la recherche bibliographique par congénère avec le mot clé "PPAR" sur la période 2010-2015

	TBBPA
Doublons avec recherches précédentes	0
Publications pertinentes pour le GT	3
HS	0

Tableau 11: Tableau récapitulatif de la recherche bibliographique par congénère avec le mot clé « cancer » sur la période 2010-2015

	BDE-28	BDE-47	BDE-99	BDE-100	BDE-153	BDE-154	BDE-183	BDE-209	HBCDD	TBBPA
Doublons avec recherches précédentes	2	7	5	5	5	0	1	0	0	0
Publications pertinentes pour le GT	0	1	3	1	1	1	0	2	1	1
Publications non pertinentes pour le GT										
HS	2	4	3	0	4	5	3	15	3	1

Tableau 12. Tableau récapitulatif de la recherche bibliographique par congénère avec le mot clé « immunotoxicity » sur la période 2010-2015

	BDE-209	TBBPA	HBCDD
Doublons avec recherches précédentes	0	0	2
Publications pertinentes pour le GT	2	4	2
HS	0	0	0

Tableau 13. Tableau récapitulatif de la recherche bibliographique pour le BDE-209 avec les différents mots clés utilisés pour les effets sur le système nerveux sur la période 2010-2015

	BDE-209 + brain	BDE-209 + neurodevelopment	BDE-209 + neural	BDE-209 + nervous system	BDE-209 + receptors	BDE-209 + behavior
Doublons avec recherches précédentes	6	3	1	2	2	2
Publications pertinentes pour le GT	2	3	2	0	1	2
HS	11	2	1	5	11	52

Tableau 14. bilan de la recherche bibliographique pour le HBCDD avec les différents mots clés utilisés pour les effets sur le système nerveux sur la période 2010-2015

HBCDD + « brain »	13
HBCDD + « neurodevelopment »	0
HBCDD + « neural »	0
HBCDD + « nervous system »	5
HBCDD + « behavior »	35
HBCDD + « receptors »	17

Tableau 15. Récapitulatif de la recherche bibliographique pour le HBCDD avec les différents mots clés utilisés pour les effets sur le système nerveux sur la période 2010-2015

	HBCDD + brain	HBCDD + nervous system	HBCDD + receptors	HBCDD + behavior
Doublons avec recherches précédentes	4	2	3	5
Publications pertinentes pour le GT	3	0	0	1
HS	6	2	9	29

Tableau 16. Bilan de la recherche bibliographique pour le TBBPA avec les différents mots clés utilisés pour les effets sur le système nerveux sur la période 2010-2015

TBBPA + « brain »	15
TBBPA + « neurodevelopment »	3
TBBPA + « neural »	3
TBBPA + « nervous system »	7
TBBPA + « behavior »	20
TBBPA + « receptors »	41

Tableau 17. Récapitulatif de la recherche bibliographique pour le TBBPA avec les différents mots clés utilisés pour les effets sur le système nerveux sur la période 2010-2015

	TBBPA + brain	TBBPA + neurodevelopment	TBBPA + receptors	TBBPA + behavior
Doublons avec recherches précédentes	4	1	12	1
Publications pertinentes pour le GT	4	0	6	2
HS	7	2	23	18

Tableau 18. Bilan de la recherche bibliographique de BDE-28 + « » dans le titre/résumé/mots clés (2010-2015)

BDE-28 + « brain »	5
BDE-28 + « neurodevelopment »	5
BDE-28 + « neural »	2
BDE-28 + « nervous system »	2
BDE-28 + « behavior »	21
BDE-28 + « receptors »	11

Tableau 19. Récapitulatif de la recherche bibliographique pour le BDE-28 avec les différents mots clés utilisés pour les effets sur le système nerveux sur la période 2010-2015

	BDE-28 + brain	BDE-28 + neurodevelopment	BDE-28 + neural	BDE-28 + nervous system	BDE-28 + behavior	BDE-28 + receptors
Doublons avec recherches précédentes	0	2	0	0	4	3
Publications pertinentes pour le GT	0	0	0	0	0	1
HS	5	3	2	2	17	7

Tableau 20. Bilan de la recherche bibliographique de BDE-47 + « ... » dans le titre/résumé/mots clés (2010-2015)

BDE-47 + « brain »	30
BDE-47 + « neurodevelopment »	16
BDE-47 + « neural »	7
BDE-47 + « nervous system »	10
BDE-47 + « behavior »	64
BDE-47 + « receptors »	33

Tableau 21. Récapitulatif de la recherche bibliographique pour le BDE-47 avec les différents mots clés utilisés pour les effets sur le système nerveux sur la période 2010-2015

	BDE-47 + brain	BDE-47 + neurodevelopment	BDE-47 + neural	BDE-47 + nervous system	BDE-47 + behavior	BDE-47 + receptors
Doublons avec recherches précédentes	7	5	4	7	4	14
Publications pertinentes pour le GT	4	8	1	1	0	2
HS	9	5	2	2	17	17

Tableau 22 : Bilan de la recherche bibliographique de BDE-99 + « ... » dans le titre/résumé/mots clés (2010-2015)

BDE-99 + « brain »	16
BDE-99 + « neurodevelopment »	11
BDE-99 + « neural »	1
BDE-99 + « nervous system »	3
BDE-99 + « behavior »	42
BDE-99 + « receptors »	14

Tableau 23. Récapitulatif de la recherche bibliographique pour le BDE-99 avec les différents mots clés utilisés pour les effets sur le système nerveux sur la période 2010-2015

	BDE-99 + brain	BDE-99 + neurodevelopment	BDE-99 + neural	BDE-99 + nervous system	BDE-99 + behavior	BDE-99 + receptors
Doublons avec recherches précédentes	7	6	1	3	6	6
Publications pertinentes pour le GT	2	1	0	0	0	1
HS	7	4	0	0	35	6

Tableau 24. Bilan de la recherche bibliographique de BDE-100 + « ... » dans le titre/résumé/mots clés (2010-2015)

BDE-100 + « brain »	4
BDE-100 + « neurodevelopment »	9
BDE-100 + « neural »	0
BDE-100 + « nervous system »	3
BDE-100 + « behavior »	33
BDE-100 + « receptors »	9

Tableau 25. Bilan de la recherche bibliographique de BDE-153 + « ... » dans le titre/résumé/mots clés (2010-2015)

BDE-153 + « brain »	14
BDE-153 + « neurodevelopment »	8
BDE-153 + « neural »	1
BDE-153 + « nervous system »	3
BDE-153 + « behavior »	27
BDE-153 + « receptors »	4

Tableau 26. Bilan de la recherche bibliographique de BDE-154 + « ... » dans le titre/résumé/mots clés (2010-2015)

BDE-154 + « brain »	3
BDE-154 + « neurodevelopment »	3
BDE-154 + « neural »	0
BDE-154 + « nervous system »	1
BDE-154 + « behavior »	16
BDE-154 + « receptors »	2

Tableau 27. Bilan de la recherche bibliographique de BDE-183 + « ... » dans le titre/résumé/mots clés (2010-2015)

BDE-183 + « brain »	4
BDE-183 + « neurodevelopment »	2
BDE-183 + « neural »	0
BDE-183 + « nervous system »	1
BDE-183 + « behavior »	14
BDE-183 + « receptors »	2

Tableau 28. Bilan de la recherche bibliographique de BDE- 209 + « ... » dans le titre/résumé/mots clés (2010-2015)

BDE-209 + « brain »	21
BDE-209 + « neurodevelopment »	8
BDE-209 + « neural »	4
BDE-209 + « nervous system »	7
BDE-209 + « behavior »	57
BDE-209 + « receptors »	14

Tableau 29. Récapitulatif de la recherche bibliographique par congénère avec le mot clé « biomonitoring » sur la période 2010-2015

	BDE-28	BDE-47	BDE-99	BDE-100	BDE-153	BDE-154	BDE-183	BDE-209	HBCDD	TBBPA
Doublons avec recherches précédentes	2	6	3	10	11	3	4	6	2	0

Publications pertinentes pour le GT	0	2	5	0	1	0	0	6	4	2
Publications non pertinentes pour le GT										
HS	4	12	12	5	13	7	3	7	5	1

Tableau 30. Récapitulatif de la recherche bibliographique par congénère avec le mot clé « blood » sur la période 2010-2015

	BDE-209	HBCDD	TBBPA
Doublons avec recherches précédentes	1	5	2
Publications pertinentes pour le GT	10	15	2
HS	2	13	2

Annexe 3 :

Résumé des études de toxicologie (en anglais)

Meijer L, Martijn A, Melessen J, Brouwer A, Weiss J, de Jong FH, et al. Influence of prenatal organohalogen levels on infant male sexual development: sex hormone levels, testes volume and penile length. Human reproduction (Oxford, England). 2012 ; 27(3) : 867-72.

Background : prenatal exposure to endocrine disruptors, like organohalogen compounds (OHCs), might be responsible for the increased aberrations in human male sexual development (hypospadias, cryptorchidism, testicular cancer and fall in sperm count) observed over the past decades. This development is established during fetal life, and reflected in sex hormone levels, testes volume and penile length post-partum. The present study investigates the correlation between prenatal OHC levels and male sexual development outcomes.

Methods and Results : levels of eight neutral [2,2'-bis-(4-chlorophenyl)-1,1'-dichloroethene (4,4'-DDE), 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl, 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether BDE-47, 99, 100, 153, 154 and 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane, HBCDD] and four phenolic [(pentachlorophenol (PCP), 4OH-CB-107 (4-hydroxy-2,3,3',4',5-pentachlorobiphenyl), -146 and -187)] OHCs were determined in 55 maternal serum samples taken at 35 weeks of pregnancy. Eight sex development-related hormones [testosterone, free testosterone, sex hormone-binding globulin (SHBG); LH, FSH, estradiol (E(2)), free E(2) (FE(2)) and inhibin B (InhB)] were determined in their sons at 3 months of age, and testes volume and penile length at 3 and 18 months of age. The following prenatal OHC levels correlated significantly with sex hormone levels: PCP with SHBG and InhB ($\rho = 0.30$ and -0.43 , respectively), 4OH-CB-107 with testosterone ($\rho = 0.31$) and BDE-154 with FE(2), E(2) and InhB ($\rho = 0.49$, 0.54 and 0.34 , respectively). BDE-154 levels correlated positively with testes volume at 18 months of age ($\rho = 0.34$).

Conclusions : prenatal OHC exposure is correlated with aspects of sexual development outcome in boys up to 18 months of age.

Abdelouahab N, Ainmelk Y, Takser L. Polybrominated diphenyl ethers and sperm quality. Reproductive toxicology (Elmsford, NY). 2011 ; 31(4) : 546-50.

Background : polybrominated diphenyl ethers are known to be endocrine disruptors and may affect male reproduction. This exploratory study investigated semen parameters and serum thyroid hormones in relation to serum PBDE, PCBs and p-p' DDE in adult men.

Methods : fifty-two men were recruited in a fertility clinic. Semen counts were done for each participant. Serum thyroid hormone and PBDE, PCB and p-p' DDE levels were measured. Sociodemographic questionnaire were administered to each participant and all medical data were obtained from medical record.

Results : semen mobility was negatively related to BDE-47, BDE-100 and Σ BDE. No

relations were observed with other semen parameters. Thyroxin levels were negatively associated to serum BDE-47, BDE-99, Σ BDE and p-p' DDE and positively related to Σ PCB. No relations were observed between T3, TSH and any of the chemicals measured.

Conclusion : these findings increased the evidence that PBDE may interfere with semen quality and thyroid status in general population.

Cope RB, Kacew S, Dourson M. A reproductive, developmental and neurobehavioral study following oral exposure of tetrabromobisphenol A on Sprague-Dawley rats. Toxicology. 2015 ; 329 : 49-59.

The objectives of these GLP US EPA OPPTS 970.3800 and 970.3700 studies were to examine the effects of tetrabromobisphenol A (TBBPA) at oral doses of 10, 100 or 1000 mg.kg⁻¹ BW/day over the course of 2 generations on growth as well as behavioral, neurological and neuropathologic functions in offspring. In a separate study the influence of oral TBBPA (0, 100, 300 or 1000 mg.kg⁻¹ BW/d) was examined on embryonic/fetal development from gestation days (GDs) 0-19. In the reproductive study, exposure to ≥ 100 -mg.kg⁻¹ BW/d TBBPA resulted in a decrease in circulating, peripheral thyroxine (T4) levels in rats that were not accompanied by any marked alterations in triiodothyronine (T3) and thyroid stimulating hormone (TSH). These findings are explainable on the basis of induction of rat liver catabolism, a phenomenon that may be species-specific and not relevant for humans. TBBPA at up to 1000 mg.kg⁻¹ BW/d was not associated with any significant non-neurological effects on reproduction, growth and development. A subtle reduction, of unknown biological relevance, in the thickness of the parietal cortices of 11-day-old F2 pups in the 1000 mg.kg⁻¹ BW/d group was noted. This change was not accompanied by evidence of micro-anatomic changes. No estrogenic effects sufficient to affect macro and micro anatomy, fertility, reproduction, development, survival or behavior were detected in the embryofetal development study or in the multigenerational study. No other TBBPA-related effects on developmental neurotoxicity/neuropathology were detected. In the developmental study no TBBPA related change in mortality rate was observed in any of the dams. No other significant test article-related effects were noted. The no observed effect level (NOEL) for maternal and developmental toxicity was 1000 mg.kg⁻¹ BW/d, the highest dose evaluated.

Sha et al. (2014) effects of prepubertal exposure to polybrominated diphenyl ethers on activity of enzymes in testis of male rats

Objective : to investigate the effects of prepubertal exposure to BDE-209 on the activity of enzymes in testis of male rats.

Methods : twenty-four male SD rats were randomly divided into the BDE-209 group and control group. The BDE-209 group was further divided into the low dose group, medium dose group, and high dose group (corn oil was used as the solvent) according to the concentration of BDE-209 (2, 10, and 50 mg.kg⁻¹, respectively). Rats of the BDE-209 group were given BDE-209 every other day for 30 d after 28 d of birth. Rats of the control group were given corn oil. All male SD rats were executed on day 63 after birth. Organ coefficients of testis and epididymis were calculated. The activity of enzymes in testis was detected and pathological changes of the testicle tissue were observed.

Results : the organ coefficients of testis and epididymis of the BDE-209 group were not

significantly different from those of the control group after being exposed to BDE-209 for one month. The differences were not statistically significant ($p > 0.05$). The activity of acid phosphatases (ACP), alkaline phosphatase (AKP), lactate dehydrogenase (LDH), and gamma-glutamyl transpeptidase (γ -GT) decreased, but the differences were not statistically significant ($p > 0.05$). No significant histomorphological changes of the testicle tissue of all groups were observed.

Conclusion : the effect of prepubertal exposure to BDE-209 on the activity of enzymes in testis of male SD rats is not significant.

Zatecka E, Ded L, Elzeinova F, Kubatova A, Dorosh A, Margaryan H, et al. Effect of tetrabromobisphenol A on induction of apoptosis in the testes and changes in expression of selected testicular genes in CD1 mice. Reproductive toxicology (Elmsford, NY). 2013 ; 35 : 32-9.

Tetrabromobisphenol A (TBBPA) is a substance widely used in industry as a flame retardant. TBBPA was found in the environment and was detected even in the human body. The effect of this chemical was observed in different cell lines in vitro and it is supposed that TBBPA may affect various hormonal systems in vivo. In this study we examined the effect of TBBPA on the reproductive parameters of two generations of outbred mice in vivo. Experimental and control animals of F1 generation were bred in various conditions to enable evaluation of the possible trans-generational effect. An increased incidence of apoptosis in the testes and changes in the morphometry of seminiferous tubules was detected in the experimental animals. In addition, changes in the expression pattern of selected genes encoding proteins that play an important role during spermatogenesis were observed. In contrast, sperm quality and reproduction were not affected by TBBPA.

Alonso V, Linares V, Belles M, Albina ML, Pujol A, Domingo JL, et al. Effects of BDE-99 on hormone homeostasis and biochemical parameters in adult male rats. Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association. 2010 ; 48(8-9) : 2206-11.

In this study, we evaluated the effects of BDE-99 on hormone homeostasis, as well as in urinary and serum biochemical parameters of adult male rats. Animals (10 per group) received BDE-99 by gavage at single doses of 0, 0.6 and 1.2mg.kg⁻¹. Forty-five days after BDE-99 exposure, urine and serum samples were collected for hormonal and biochemical analysis. Oxidative stress (OS) markers in erythrocytes, plasma and urine were also evaluated. Urinary excretion of total protein significantly increased following BDE-99 exposure, while lactate dehydrogenase (LDH), gamma-glutamyl transferase (GGT), and N-acetylglucosaminidase (NAG) activities significantly decreased. Liver toxicity was evidenced by elevated serum activities of the enzymes glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvic transaminase (GPT) and alkaline phosphatase (ALP). Following BDE-99 administration, OS markers in erythrocytes showed an increase in superoxide dismutase (SOD) activity, and a reduction in glutathione reductase (GR) activity. In urine, isoprostane levels increased after BDE-99 exposure. The hormonal analysis showed a significant decrease in testosterone and progesterone levels. These results support the hypothesis that BDE-99 interacts with hormonal response. Moreover, BDE-99 administration to adult male rats showed signs of renal and hepatic toxicity.

Dankers AC, Roelofs MJ, Piersma AH, Sweep FC, Russel FG, van den Berg M, et al. Endocrine disruptors differentially target ATP-binding cassette transporters in the blood-testis barrier and affect Leydig cell testosterone secretion in vitro. Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology. 2013 ; 136(2) : 382-91.

Endocrine-disrupting chemicals (EDCs) are considered to cause testicular toxicity primarily via interference with steroid hormone function. Alternatively, EDCs could possibly exert their effects by interaction with ATP-binding cassette (ABC) transporters that are expressed in the blood-testis barrier. In this study, we investigated the effects of bisphenol A (BPA), tetrabromobisphenol A (TBBPA), bis(2-ethylhexyl) phthalate, mono(2-ethylhexyl) phthalate, perfluorooctanoic acid (PFOA), and perfluorooctanesulfonic acid (PFOS) on breast cancer resistance protein (BCRP), multidrug resistance proteins 1 and 4 (MRP1 and MRP4), and P-glycoprotein (P-gp) using membrane vesicles overexpressing these transporters. BPA solely inhibited BCRP activity, whereas TBBPA, PFOA, and PFOS inhibited all transporters tested. No effect was observed for the phthalates. Using transporter-overexpressing Madin-Darby canine kidney cells, we show that BPA and PFOA, but not TBBPA, are transported by BCRP, whereas none of the compounds were transported by P-gp. To investigate the toxicological implications of these findings, testosterone secretion and expression of steroidogenic genes were determined in murine Leydig (MA-10) cells upon exposure to the selected EDCs. Only BPA and TBBPA concentration-dependently increased testosterone secretion by MA-10 cells to 6- and 46-fold of control levels, respectively. Inhibition of the Mrp's by MK-571 completely blocked testosterone secretion elicited by TBBPA, which could not be explained by coinciding changes in expression of steroidogenic genes. Therefore, we hypothesize that transporter-mediated efflux of testosterone precursors out of MA-10 cells is inhibited by TBBPA resulting in higher availability for testosterone production. Our data show the toxicological and clinical relevance of ABC transporters in EDC risk assessment related to testicular toxicity.

Chao HR, Shy CG, Wang SL, Chen SC, Koh TW, Chen FA, et al. Impact of non-occupational exposure to polybrominated diphenyl ethers on menstruation characteristics of reproductive-age females. Environment international. 2010 ; 36(7) : 728-35.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) have documented effects on thyroid functions and rodent behavior *in vivo*. Epidemiological studies, however, have revealed only limited information about associations between PBDE exposure and menstruation characteristics. Our goal was to examine whether high breast milk PBDE levels in reproductive-age females lead to interference with menstruation characteristics. We analyzed 15 PBDE congeners in 46 breast milk samples. Fifteen PBDE congeners (BDE-15, 28, 47, 49, 99, 100, 153, 154, 183, 196, 197, 203, 207, 208, and 209) were analyzed using a gas chromatograph equipped with a high resolution mass spectrometer. The mean sum of PBDEs (Sigma-PBDEs) in breast milk was 3.42 ng/g lipid. Women's age at menarche was not correlated with breast milk PBDE levels. Increased BDE-208 and 209 levels were significantly associated with the prolonged length of average and the longest menstrual cycle independent of age, pre-pregnant BMI, and parity. Higher concentrations of Sigma-PBDEs and the higher brominated PBDEs from BDE-183 to 209, except 197, were significantly linked to women whose

menstruation periods were still coming irregularly at the sampling time. Age-adjusted odds ratios (ORs) of BDE-153, 183, 207, 208, and Sigma-PBDEs were significantly higher in women with length of average menstrual cycle > 32 days, compared to the control. Women whose menstruation periods still came irregularly when they were 18 years old had higher age-adjusted ORs of BDE-207, 208, 209, and Sigma-PBDEs than those whose periods came regularly at the same age. Although Sigma-PBDEs and certain higher brominated PBDEs appear to have potential to prolong length of average menstrual cycle and delay the age when menstruation periods begin coming regularly, these findings are not conclusive because our sample size is small and more scientific evidence is needed.

Chen A, Chung E, DeFranco EA, Pinney SM, Dietrich KN. Serum PBDEs and age at menarche in adolescent girls: analysis of the National Health and Nutrition Examination Survey 2003-2004. Environmental research. 2011 ; 111(6) : 831-7.

Background : polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), widely used as flame retardants since the 1970s, have exhibited endocrine disruption in experimental studies. Tetra- to hexa-BDE congeners are estrogenic, while hepta-BDE and 6-OH-BDE-47 are antiestrogenic. Most PBDEs also have antiandrogenic activity. It is not clear, however, whether PBDEs affect human reproduction.

Objectives : the analysis was designed to investigate the potential endocrine disruption of PBDEs on the age at menarche in adolescent girls.

Methods : we analyzed the data from a sample of 271 adolescent girls (age 12-19 years) in the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES), 2003-2004. We estimated the associations between individual and total serum BDEs (BDE-28, 47, 99, 100, 153, and 154, lipid adjusted) and mean age at menarche. We also calculated the risk ratios (RRs) and 95% confidence intervals (CI) for menarche prior to age 12 years in relation to PBDE exposure.

Results : the median total serum BDE concentration was 44.7ng/g lipid. Higher serum PBDE concentrations were associated with slightly earlier ages at menarche. Each natural log unit of total BDEs was related to a change of -0.10 (95% CI: -0.33, 0.13) years of age at menarche and a RR of 1.60 (95% CI: 1.12, 2.28) for experiencing menarche before 12 years of age, after adjustment for potential confounders.

Conclusion : these data suggest high concentrations of serum PBDEs during adolescence are associated with a younger age of menarche.

Johnson PI, Altshul L, Cramer DW, Missmer SA, Hauser R, Meeker JD. Serum and follicular fluid concentrations of polybrominated diphenyl ethers and in-vitro fertilization outcome. Environment international. 2012 ; 45 : 9-14.

There is evidence of endocrine disruption and reproductive effects in animals following exposure to certain PBDEs, but human studies are limited. The goal of this study was to investigate the use of serum and follicular fluid as biomarkers of exposure to PBDEs and to explore whether a relationship between PBDE exposure and early pregnancy loss exists. We measured 8 PBDE congeners in archived serum and ovarian follicular fluid samples from 65 women undergoing in-vitro fertilization (IVF). Logistic regression models were used to predict the odds of failed embryo implantation associated with higher levels of PBDEs among the

women in the study. There were moderate Kendall's Tau-beta correlations between serum and follicular fluid concentrations of BDE-28, 47, 100 and 154 ($T(\beta) = 0.29-0.38$, all p-values < 0.005), but BDE-99 and 153 were not correlated between the two matrices ($T(\beta) < 0.2$, p-values > 0.05). Women with detectable concentrations of BDE-153 (39% had detectable levels) in follicular fluid had elevated odds of failed implantation compared with women who had non-detectable concentrations (adjusted OR = 10.0; 95%CI: 1.9 to 52; $p = 0.006$; adjusted by age and body mass index). These findings suggest that exposure to BDE-153 may be associated with failed embryo implantation. Due to our observation of only moderate correlations between matrices, serum PBDE concentrations may not be a good indicator of follicular fluid concentrations when studying early pregnancy endpoints in women undergoing IVF.

Kim S, Park J, Kim HJ, Lee JJ, Choi G, Choi S, et al. Association between Several Persistent Organic Pollutants and Thyroid Hormone Levels in Cord Blood Serum and Bloodspot of the Newborn Infants of Korea. PLoS One. 2015 ; 10(5) : e0125213.

Current knowledge on adverse endocrine disruption effects of persistent organic pollutants (POPs) among newborn infants is limited and often controversial. To investigate the associations between prenatal exposure to major POPs and thyroid hormone levels among newborn infants, both cord serum or maternal serum concentrations of polychlorinated biphenyls (PCBs), polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), and organochlorine pesticides (OCPs) were compared with five thyroid hormones in cord serum of newborn infants as well as TSH in bloodspot collected at 2 day after birth ($n=104$). Since cord serum thyroid hormones could be affected by those of mothers, thyroid hormone concentrations of the matching mothers at delivery were adjusted. In cord serum, BDE-47, 99, and Σ chlordanes (CHD) showed significant positive associations with cord or bloodspot TSH. At the same time, p,p'-dichlorodiphenyldichloroethylene (p,p'-DDE) and hexachlorobenzene (HCB) showed negative associations with total T3 and total T4 in cord serum, respectively. Maternal exposure to β -hexachlorhexane (β -HCH), Σ CHD, Σ DDT, or p,p'-DDE were also associated with neonatal thyroid hormones. Although the sample size is small and the thyroid hormone levels of the subjects were within the reference range, our observation supports thyroid disrupting potential of several POPs among newborn infants, at the levels occurring in the general population. Considering the importance of thyroid hormones during gestation and early life stages, health implication of thyroid hormone effects by low level POPs exposure deserves further follow up investigations.

Miranda ML, Anthopolos R, Wolkin A, Stapleton HM. Associations of birth outcomes with maternal polybrominated diphenyl ethers and thyroid hormones during pregnancy. Environment international. 2015 ; 85 : 244-53.

Background : previous research has linked polybrominated diphenyl ether (PBDE) exposure to poor birth outcomes and altered thyroid hormone levels.

Objectives : we examined whether maternal PBDE serum levels were associated with infant birth weight (g), head circumference (cm), birth length (cm), and birth weight percentile for gestational age. We explored the potential for a mediating role of thyroid hormone levels.

Methods : during 2008-2010, we recruited 140 pregnant women in their third trimester as part of a larger clinical obstetrics study known as Healthy Pregnancy, Healthy Baby. Blood samples were collected during a routine prenatal clinic visit. Serum was analyzed for PBDEs,

phenolic metabolites, and thyroid hormones. Birth outcome information was abstracted from medical records.

Results : in unadjusted models, a two-fold increase in maternal BDE-153 was associated with an average decrease in head circumference of 0.32 cm (95% CI: -0.53, -0.12); however, this association was attenuated after control for maternal risk factors. BDE-47 and 99 were similarly negatively associated but with 95% confidence intervals crossing the null. Associations were unchanged in the presence of thyroid hormones.

Conclusions : our data suggest a potential deleterious association between maternal PBDE levels and infant head circumference; however, confirmatory studies are needed in larger sample sizes. A mediating role of thyroid hormones was not apparent.

Vuong AM, Webster GM, Romano ME, Braun JM, Zoeller RT, Hoofnagle AN, et al. Maternal Polybrominated Diphenyl Ether (PBDE) Exposure and Thyroid Hormones in Maternal and Cord Sera : The HOME Study, Cincinnati, USA. Environmental health perspectives. 2015 ; 123(10) :1079-85.

Background : polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) reduce blood concentrations of thyroid hormones in laboratory animals, but it is unclear whether PBDEs disrupt thyroid hormones in pregnant women or newborn infants.

Objectives : we investigated the relationship between maternal PBDE levels and thyroid hormone concentrations in maternal and cord sera.

Methods : we used data from the Health Outcomes and Measures of the Environment (HOME) Study, a prospective birth cohort of 389 pregnant women in Cincinnati, Ohio, who were enrolled from 2003 through 2006 and delivered singleton infants. Maternal serum PBDE concentrations were measured at enrollment (16 ± 3 weeks of gestation). Thyroid hormone concentrations were measured in maternal serum at enrollment (n = 187) and in cord serum samples (n = 256).

Results : median maternal serum concentrations of BDEs 28 and 47 were 1.0 and 19.1 ng/g lipid, respectively. A 10-fold increase in BDEs 28 and 47 concentrations was associated with a 0.85-µg/dL [95% confidence interval (CI): 0.05, 1.64] and 0.82-µg/dL (95% CI: 0.12, 1.51) increase in maternal total thyroxine concentrations (TT4), respectively. Both congeners were also positively associated with maternal free thyroxine (FT4). We also observed positive associations between BDE-47 and maternal total and free triiodothyronine (TT3 and FT3). A 10-fold increase in BDE-28 was associated with elevated FT3 concentrations (β = 0.14 pg/mL; 95% CI: 0.02, 0.26). In contrast, maternal PBDE levels were not associated with thyroid hormone concentrations in cord serum.

Conclusions : these findings suggest that maternal PBDE exposure, particularly BDEs 28 and 47, are associated with maternal concentrations of T4 and T3 during pregnancy.

Huang F, Wen S, Li J, Zhong Y, Zhao Y, Wu Y. The human body burden of polybrominated diphenyl ethers and their relationships with thyroid hormones in the general population in Northern China. The Science of the total environment. 2014 ; 466-467 : 609-15.

This study was conducted to determine the human body burden of polybrominated diphenyl

ethers (PBDEs) and then clarify the relationships between that and the disruption of thyroid hormones in the general population in Northern China. Between November 2010 and May 2011, 124 serum samples were obtained from volunteers from the provinces of Shanxi and Liaoning. Serum samples were prepared by solid-phase extraction and analyzed for BDE-17, 28, 47, 66, 99, 100, 153, 154, 183 and 209 by gas chromatography-negative chemical ionization mass spectrometry. The median concentration of the total PBDEs was 7.2 ng/g lipid weights (lw); concentrations ranged from 2.1 to 160.3 ng/glw. The PBDE profiles in this study differed from those of other general populations. BDE-209 was the most abundant congener (median, 5.0 ng/glw; range, non-detected - 157.1 ng/glw), accounting for more than 75% of the total PBDEs, followed by BDE-153. The total PBDE concentrations in men were significantly higher as compared to women. The donors' age was correlated with a few PBDE congeners, but was not correlated with the total PBDE concentrations. The overall level of PBDEs in this study was lower than that observed in general populations in Southern China, Europe, and North America. There were apparent correlations between concentrations of several PBDE congeners and thyroid hormones. Triiodothyronine (T_3) was correlated with BDE-99 and 209 and inversely correlated with BDE-17, 28, 47, 153, 183, and the summed tri- to hepta-PBDE congeners (\sum_{3-7} PBDEs). Thyroid-stimulating hormone (TSH) was correlated with BDE-17, 28, 47, and 183 and inversely correlated with BDE-99. No correlation between free tetraiodothyronine (FT_4) and PBDEs was observed. Logistic regression analysis results indicated that those with higher levels of BDE-17 or BDE-153 had significantly lower odds of having T_3 levels above the normal range compared to those with lower levels of BDE-17 or BDE-153. Association between FT_4 and BDE-153 disappeared after controlling for sex and age. However, there was no significant association between TSH and PBDEs. The results of the present study showed that even at a relatively low level, PBDEs might interfere with the thyroid hormone levels in the general population.

Johnson PI, Stapleton HM, Mukherjee B, Hauser R, Meeker JD. Associations between brominated flame retardants in house dust and hormone levels in men. *The Science of the total environment*. 2013 ; 445-446 : 177-84.

Brominated flame retardants (BFRs) are used in the manufacture of a variety of materials and consumer products in order to meet fire safety standards. BFRs may persist in the environment and have been detected in wildlife, humans and indoor dust and air. Some BFRs have demonstrated endocrine and reproductive effects in animals, but human studies are limited. In this exploratory study, we measured serum hormone levels and flame retardant concentrations [31 polybrominated diphenyl ether (PBDE) congeners and 6 alternate flame retardants] in house dust from men recruited through a US infertility clinic. PBDE congeners in dust were grouped by commercial mixtures (i.e. penta-, octa- and deca-BDE). In multivariable linear regression models adjusted by age and body mass index (BMI), significant positive associations were found between house dust concentrations of pentaBDEs and serum levels of free T_4 , total T_3 , estradiol, and sex hormone binding globulin (SHBG), along with an inverse association with follicle stimulating hormone (FSH). There were also positive associations of octa-BDE concentrations with serum free T_4 , thyroid stimulating hormone (TSH), luteinizing hormone (LH) and testosterone and an inverse association of deca-BDE concentrations with testosterone. Hexabromocyclododecane (HBCDD) was associated with decreased SHBG and increased free androgen index. Dust concentrations of bis-tribromophenoxyethane (BTBPE) and tetrabromo-diethylhexylphthalate

(TBPH) were positively associated with total T3. These findings are consistent with our previous report of associations between PBDEs (BDE-47, 99 and 100) in house dust and hormone levels in men, and further suggest that exposure to contaminants in indoor dust may be leading to endocrine disruption in men.

Kicinski M, Viaene MK, Den Hond E, Schoeters G, Covaci A, Dirtu AC, et al. Neurobehavioral function and low-level exposure to brominated flame retardants in adolescents : a cross-sectional study. Environmental health : a global access science source. 2012 ; 11 : 86.

Background : animal and in vitro studies demonstrated a neurotoxic potential of brominated flame retardants, a group of chemicals used in many household and commercial products to prevent fire. Although the first reports of detrimental neurobehavioral effects in rodents appeared more than ten years ago, human data are sparse.

Methods : as a part of a biomonitoring program for environmental health surveillance in Flanders, Belgium, we assessed the neurobehavioral function with the Neurobehavioral Evaluation System (NES-3), and collected blood samples in a group of high school students. Cross-sectional data on 515 adolescents (13.6-17 years of age) was available for the analysis. Multiple regression models accounting for potential confounders were used to investigate the associations between biomarkers of internal exposure to brominated flame retardants [serum levels of polybrominated diphenyl ether (PBDE) congeners 47, 99, 100, 153, 209, hexabromocyclododecane (HBCDD), and tetrabromobisphenol A (TBBPA)] and cognitive performance. In addition, we investigated the association between brominated flame retardants and serum levels of FT3, FT4, and TSH.

Results : a two-fold increase of the sum of serum PBDE's was associated with a decrease of the number of taps with the preferred-hand in the Finger Tapping test by 5.31 (95% CI: 0.56 to 10.05, $p = 0.029$). The effects of the individual PBDE congeners on the motor speed were consistent. Serum levels above the level of quantification were associated with an average decrease of FT3 level by 0.18 pg/mL (95% CI: 0.03 to 0.34, $p = 0.020$) for PBDE-99 and by 0.15 pg/mL (95% CI: 0.004 to 0.29, $p = 0.045$) for PBDE-100, compared with concentrations below the level of quantification. PBDE-47 level above the level of quantification was associated with an average increase of TSH levels by 10.1% (95% CI: 0.8% to 20.2%, $p = 0.033$), compared with concentrations below the level of quantification. We did not observe effects of PBDE's on neurobehavioral domains other than the motor function. HBCDD and TBBPA did not show consistent associations with performance in the neurobehavioral tests.

Conclusions : this study is one of few studies and so far the largest one investigating the neurobehavioral effects of brominated flame retardants in humans. Consistently with experimental animal data, PBDE exposure was associated with changes in the motor function and the serum levels of the thyroid hormones.

Kim TH, Bang du Y, Lim HJ, Won AJ, Ahn MY, Patra N, et al. Comparisons of polybrominated diphenyl ethers levels in paired South Korean cord blood, maternal blood, and breast milk samples. Chemosphere. 2012 ; 87(1) : 97-104.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), commonly used flame retardants, have been reported as potential endocrine disruptor and neurodevelopmental toxicants, thus giving rise

to the public health concern. The goal of this study was to investigate the relationship between umbilical cord blood, maternal blood, and breast milk concentrations of PBDEs in South Korean. We assessed PBDE levels in paired samples of umbilical cord blood, maternal blood, and breast milk. The levels of seven PBDE congeners were measured in 21 paired samples collected from the Cheil Woman's Hospital (Seoul, Korea) in 2008. We also measured thyroid hormones levels in maternal and cord blood to assess the association between PBDEs exposure and thyroid hormone levels. However, there was no correlation between serum thyroxin (T4) and total PBDEs concentrations. The total PBDEs concentrations in the umbilical cord blood, maternal blood, and breast milk were 10.7 ± 5.1 ng g⁽⁻¹⁾ lipid, 7.7 ± 4.2 ng g⁽⁻¹⁾ lipid, and 3.0 ± 1.8 ng g⁽⁻¹⁾ lipid, respectively. The ranges of total PBDE concentrations observed were 2.28-30.94 ng g⁽⁻¹⁾ lipid in umbilical cord blood, 1.8-17.66 ng g⁽⁻¹⁾ lipid in maternal blood, and 1.08-8.66 ng g⁽⁻¹⁾ lipid in breast milk. BDE-47 (45-73% of total PBDEs) was observed to be present dominantly in all samples, followed by BDE-153. A strong correlation was found for major BDE-congeners between breast milk and cord blood or maternal blood and cord blood samples. The measurement of PBDEs concentrations in maternal blood or breast milk may help to determine the concentration of PBDEs in infant.

Kim UJ, Kim MY, Hong YH, Lee DH, Oh JE. Assessment of impact of internal exposure to PBDEs on human thyroid function-comparison between congenital hypothyroidism and normal paired blood. Environmental science & technology. 2012 ; 46(11) : 6261-8.

In this work, we investigated exposure levels, distribution patterns, and potential harmful impacts of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) on thyroid hormone activity in 26 children with congenital hypothyroidism and their mothers' pair and 12 normal control pairs. The average concentration of PBDEs in congenital hypothyroidism (median : 22.16 ng/g lipid) was higher than in normal controls (median : 14.76 ng/g lipid), but there was no statistical difference between the two groups. The BDE congeners were dominated by penta- to hepta-BDEs, but the greater brominated congeners (e.g., BDE-197, 196, 207, and 208) were relatively abundant in congenital hypothyroidism. BDE-138 was only observed in the congenital hypothyroidism cases. The maternal transfer and transport ratio of individual BDE congeners was shown for BDE-28 (0.588, $p < 0.001$), BDE 47 (0.564, $p < 0.001$), BDE-49 (0.712, $p < 0.001$) and BDE-119 (0.477, $p = 0.002$). The thyroid hormones were most obviously influenced by the internal exposure to PBDEs in normal mothers, showing a positive relationship with TSH (0.641 with BDE-154; 0.591 with BDE-153) and FT4 (0.584 with BDE-49; 0.572 with BDE-66) and a negative relationship with T3 (-0.577 with BDE-154) in the normal infants group. No significant correlations were observed in the congenital hypothyroidism cases.

Leijds MM, ten Tusscher GW, Olie K, van Teunenbroek T, van Aalderen WM, de Voogt P, et al. Thyroid hormone metabolism and environmental chemical exposure. Environmental health : a global access science source. 2012 ; 11 Suppl 1 : S10.

Background : polychlorinated dioxins and -furans (PCDD/Fs) and polychlorinated-biphenyls (PCBs) are environmental toxicants that have been proven to influence thyroid metabolism both in animal studies and in human beings. In recent years polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) also have been found to have a negative influence on thyroid hormone metabolism.

The lower brominated flame retardants are now banned in the EU, however higher brominated decabromo-diphenyl ether (DBDE) and the brominated flame retardant hexabromocyclododecane (HBCDD) are not yet banned. They too can negatively influence thyroid hormone metabolism. An additional brominated flame retardant that is still in use is tetrabromobisphenol-A (TBBPA), which has also been shown to influence thyroid hormone metabolism. Influences of brominated flame retardants, PCDD/F's and dioxin like-PCBs (dl-PCB's) on thyroid hormone metabolism in adolescence in the Netherlands will be presented in this study and determined if there are reasons for concern to human health for these toxins. In the period 1987-1991, a cohort of mother-baby pairs was formed in order to detect abnormalities in relation to dioxin levels in the perinatal period. The study demonstrated that PCDD/Fs were found around the time of birth, suggesting a modulation of the setpoint of thyroid hormone metabolism with a higher 3,3', 5,5'tetrathyroxine (T4) levels and an increased thyroid stimulating hormone (TSH). While the same serum thyroid hormone tests (-TSH and T4) were again normal by 2 years of age and were still normal at 8-12 years, adolescence is a period with extra stress on thyroid hormone metabolism. Therefore we measured serum levels of TSH, T4, 3,3',5- triiodothyronine (T3), free T4 (FT4), antibodies and thyroxine-binding globulin (TBG) in our adolescent cohort.

Methods : vena puncture was performed to obtain samples for the measurement of thyroid hormone metabolism related parameters and the current serum dioxin (PCDD/Fs), PCB and PBDE levels.

Results : the current levels of T3 were positively correlated to BDE-99. A positive trend with FT4 and BDE-99 was also seen, while a positive correlation with T3 and dl-PCB was also seen. No correlation with TBG was seen for any of the contaminants. Neither the prenatal nor the current PCDD/F levels showed a relationship with the thyroid parameters in this relatively small group.

Conclusion : once again the thyroid hormone metabolism (an increase in T3) seems to have been influenced by current background levels of common environmental contaminants: dl-PCBs and BDE-99. T3 is a product of target organs and abnormalities might indicate effects on hormone transporters and could cause pathology. While the influence on T3 levels may have been compensated, because the adolescents functioned normal at the time of the study period, it is questionable if this compensation is enough for all organs depending on thyroid hormones.

Shy CG, Huang HL, Chao HR, Chang-Chien GP. Cord blood levels of thyroid hormones and IGF-1 weakly correlate with breast milk levels of PBDEs in Taiwan. International journal of hygiene and environmental health. 2012 ; 215(3) : 345-51.

In vivo studies indicate that prenatal or neonatal exposure of rodents to polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) disrupts thyroid hormone balance, but few studies have reported an association of PBDEs and insulin-like growth factor 1 (IGF-1). The goal was to examine whether PBDEs exposure affects the levels of thyroid hormones and IGF-1 in cord blood. Study participants were healthy pregnant women recruited from the general population in central Taiwan between 2000 and 2001 and in southern Taiwan from 2007 to 2009. One-hundred-forty-nine breast milk samples (n=149), which were collected within one month after delivery, were analyzed using a high resolution gas chromatograph equipped with a high resolution mass spectrometer. The average and median levels of breast milk $\Sigma(14)$ PBDEs

were 5.34 and 3.38 ng/g lipid in 2000-2001 and 5.22 and 3.13 ng/g lipid in 2007-2009, respectively. In general, levels of PBDE congeners were very low in this study population and not significantly different between the years 2000-2001 and 2007-2009. Breast milk $\Sigma(14)$ PBDEs were not significantly correlated with thyroid hormones and IGF-1 in cord blood. After examining multiple stepwise linear regression models with adjustment for maternal age, pre-pregnancy body mass index (BMI), parity, gestational age, and region (namely, central and southern Taiwan), we found that log of T4 in cord blood was significantly but slightly correlated with higher BDE-154 ($B=0.113$, $p=0.017$) in breast milk. The log of FT4 concentration was significantly related to a decrease in the log of BDE-99 level ($B=-0.137$, $p=0.043$) and an increase in the log of BDE-154 level ($B=0.158$, $p=0.008$). Meanwhile, the log of IGF-1 level was also significantly linked to an increase in the log of BDE-196 level ($B=0.532$, $p=0.028$) and decrease in the log of BDE-85 level ($B=-0.235$, $p=0.018$). Few epidemiological studies report an association between PBDEs exposure and IGF-1. Based on our findings, further in vivo and epidemiological studies are encouraged and needed to explore associations between PBDEs exposure and levels of thyroid hormones and IGF-1.

Abdelouahab N, Ainmelk Y, Takser L. Polybrominated diphenyl ethers and sperm quality. Reproductive toxicology (Elmsford, NY). 2011 ; 31(4) : 546-50.

Background : polybrominated diphenyl ethers are known to be endocrine disruptors and may affect male reproduction. This exploratory study investigated semen parameters and serum thyroid hormones in relation to serum PBDE, PCBs and p-p' DDE in adult men.

Methods : fifty-two men were recruited in a fertility clinic. Semen counts were done for each participant. Serum thyroid hormone and PBDE, PCB and p-p' DDE levels were measured. Sociodemographic questionnaire were administered to each participant and all medical data were obtained from medical record.

Results : semen mobility was negatively related to BDE-47, BDE-100 and Σ BDE. No relations were observed with other semen parameters. Thyroxin levels were negatively associated to serum BDE-47, BDE-99, Σ BDE and p-p' DDE and positively related to Σ PCB. No relations were observed between T3, TSH and any of the chemicals measured.

Conclusion : these findings increased the evidence that PBDE may interfere with semen quality and thyroid status in general population.

Kim UJ, Lee IS, Kim HS, Oh JE. Monitoring of PBDEs concentration in umbilical cord blood and breast milk from Korean population and estimating the effects of various parameters on accumulation in humans. Chemosphere. 2011 ; 85(3) : 487-93.

In this study, we investigated concentration, congener distribution pattern, and effects of potential environmental factors that affect PBDE accumulation. We also estimated correlation between PBDE concentration and health status or thyroid function by analyzing 90 cord blood and 21 breast milk samples obtained from Korean population. Seven from tri- to hepta-BDEs were analyzed by solid phase extraction-high-resolution gas chromatography/high-resolution mass spectrometry (SPE-HRGC/HRMS). The total concentration of 7 PBDEs in cord blood was 2.786-94.64 ng g(-1) lipid and that in breast milk was 1.076-8.664 ng g(-1) lipid. Tetra-BDE (#47) was the predominant type of PBDE and was present at concentrations of over 40% in both sample types. A weak correlation was observed between the

concentration of BDE-28 and 153 and thyroid hormone concentration only in the breast milk samples. In children, a weak negative correlation was observed between free thyroxine (FT4) concentration and BDE-28 concentration (0.302, $p < 0.05$), while in mothers, a weak positive correlation was observed between thyroid hormone concentration and BDE-153 concentration (0.403, $p < 0.05$). No significant correlations between PBDE concentration and work and residential environments were found in this study, but a weak correlation between BDE concentration in cord blood and potential PBDE sources was confirmed by investigating the frequency of oil paint usage (0.510, $p < 0.001$). A weak correlation was also found between PBDE concentration in breast milk during pregnancy and dietary habits such as green tea drinking (0.541, $p=0.025$) and Trichiuridae intake (0.565, $p = 0.015$).

Li MY, Jin J, Yang CQ, Wang Y, Ding WW, Yang XF, et al. [Correlations between PBDEs and thyroid hormone concentrations in adults from production source area]. Huan jing ke xue= Huanjing kexue / [bian ji, Zhongguo ke xue yuan huan jing ke xue wei yuan hui "Huan jing ke xue" bian ji wei yuan hui]. 2011 ; 32(11) : 3271-6.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) concentrations in 36 resident serum samples from PBDEs production source area were analyzed by gas chromatography/negative chemical ionization/mass spectrometry (GC-NCI-MS) method, and the concentrations of thyroid hormones were determined as well. The sigma5PBDEs (BDE-28, 47, 153, 183, 209) concentrations (lipid weight) in serum ranged from 130.3 to 4 478.4 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$, with an average value of 529.9 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$. BDE-209 was a dominant PBDE congener, on average accounting for 69.8% of the total PBDEs concentrations. Spearman rank correlation coefficient was calculated between PBDEs and thyroid hormone, it showed that there were high significant negative correlation between BDE-28, 47, 153, 183 and thyroid-stimulating hormone (TSH), and significant negative correlation was also found between BDE-183 and free thyroxine (fT4). Additionally, there were significant positive correlation between BDE-28, 47 and triiodothyronine (T3), as well as between BDE-28, 153, 183 and free triiodothyronine (fT3). In summary, the concentrations of PBDEs in serum in this study were at a high level, and BDE-209 was the predominant congener. The exposure to the PBDEs may affect thyroid hormone levels, and the further research should focus on the relationship between PBDEs and thyroid hormone concentrations.

Eggesbo M, Thomsen C, Jorgensen JV, Becher G, Odland JO, Longnecker MP. Associations between brominated flame retardants in human milk and thyroid-stimulating hormone (TSH) in neonates. Environmental research. 2011 ; 111(6) : 737-43.

Background : brominated flame retardants (BFRs) have been in widespread use in a vast array of consumer products since the 1970s. The metabolites of some BFRs show a structural similarity to thyroid hormones and experimental animal studies have confirmed that they may interfere with thyroid hormone homeostasis. A major concern has been whether intrauterine exposure to BFRs may disturb thyroid homeostasis since the fetal brain is particularly susceptible to alterations in thyroid hormones. However, few reports on newborns have been published to date.

Objectives : to evaluate the association between BFRs and neonatal thyroid-stimulating hormone (TSH).

Methods : we studied six polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) measured in milk samples from 239 women who were part of the "Norwegian Human Milk Study" (HUMIS), 2003-2006. Hexabromocyclododecane (HBCDD) and BDE-209 were measured in a subset of the women (193 and 46 milk samples, respectively). The milk was sampled at a median of 33 days after delivery. TSH was measured in babies three days after delivery as part of the routine national screening program for early detection of congenital hypothyroidism. Additional information was obtained through the Medical Birth Registry and questionnaires to the mothers.

Results : the PBDE concentrations in human milk in Norway were comparable to concentrations reported from other European countries and Asia, but not the US and Canada where levels are approximately one order of higher magnitude. We observed no statistically significant associations between BDE-47, 99, 153, 154, 209 and HBCDD in human milk and TSH in models adjusted for possible confounders and other environmental toxicants including polychlorinated biphenyls (PCBs).

Conclusions : we did not observe an association between TSH and exposure to HBCDD and PBDEs within the exposure levels observed.

Lin SM, Chen FA, Huang YF, Hsing LL, Chen LL, Wu LS, et al. Negative associations between PBDE levels and thyroid hormones in cord blood. International journal of hygiene and environmental health. 2011 ; 214(2) : 115-20.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) causing thyroidal effects have been demonstrated in in vivo and in vitro studies. PBDEs with structural similarities to thyroid hormones have increased recently, but the health effects for thyroid hormones have not been well studied. The study aimed to determine PBDE levels in cord blood and further to explore associations between prenatal PBDE exposures and thyroid hormones in cord blood. Fifty-four cord blood samples were collected after delivery. Cord-blood levels of BDE-15, 28, 47, 99, 100, 153, 154, and 183 were analyzed using a high resolution gas chromatograph with a high resolution mass spectrometer. Thyroid hormones were determined by an automated chemiluminescence analyzer. The mean, median, and standard deviation of Σ PBDEs were 4.72, 3.49, and 6.36 ng/g lipid, respectively. To adjust for confounding by maternal age, pre-pregnant BMI and gestational age, stepwise multiple linear regression was used after log(2) transformation of the exposure variables. A doubling of BDE-154 was associated with 0.043 ng/mL lower triiodothyronine (T3) values (adjusted $r = -0.245$, $p = 0.043$). Likewise a doubling of BDE-153 was associated with 0.143 ng/mL lower free T3 (FT3) values and a doubling of BDE-183 with 0.084 ng/mL lower FT3 values (adjusted $r = -0.487$, $p = 0.023$). In contrast, the T4 (thyroxine)/T3 ratio increased by 4.93 (adjusted $r = 0.277$, $p = 0.017$) when doubling BDE-100 exposure. No significant associations with BDE-47 or any other of the PBDEs was found. Our findings of an inverse relationship between BDE-153, BDE-154 or BDE-184 and thyroid hormones confirm the results of animal experiments but are in contrast to most epidemiological studies.

Stapleton HM, Eagle S, Anthopolos R, Wolkin A, Miranda ML. Associations between polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants, phenolic metabolites, and

thyroid hormones during pregnancy. Environmental health perspectives. 2011 ; 119(10) : 1454-9.

Background : polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are chemical additives used as flame retardants in commercial products. PBDEs are bioaccumulative and persistent and have been linked to several adverse health outcomes.

Objectives : this study leverages an ongoing pregnancy cohort to measure PBDEs and PBDE metabolites in serum collected from an understudied population of pregnant women late in their third trimester. A secondary objective was to determine whether the PBDEs or their metabolites were associated with maternal thyroid hormones.

Methods : one hundred forty pregnant women > 34 weeks into their pregnancy were recruited into this study between 2008 and 2010. Blood samples were collected during a routine prenatal clinic visit. Serum was analyzed for a suite of PBDEs, three phenolic metabolites (i.e., containing an -OH moiety), and five thyroid hormones.

Results : PBDEs were detected in all samples and ranged from 3.6 to 694 ng/g lipid. Two hydroxylated BDE congeners (4'-OH-BDE-49 and 6-OH-BDE-47) were detected in > 67% of the samples. BDEs 47, 99, and 100 were significantly and positively associated with free and total thyroxine (T4) levels and with total triiodothyronine levels above the normal range. Associations between T4 and PBDEs remained after controlling for smoking status, maternal age, race, gestational age, and parity.

Conclusions : PBDEs and OH-BDEs are prevalent in this cohort, and levels are similar to those in the general population. Given their long half-lives, PBDEs may be affecting thyroid regulation throughout pregnancy. Further research is warranted to determine mechanisms through which PBDEs affect thyroid hormone levels in developing fetuses and newborn babies.

Zota AR, Park JS, Wang Y, Petreas M, Zoeller RT, Woodruff TJ. Polybrominated diphenyl ethers, hydroxylated polybrominated diphenyl ethers, and measures of thyroid function in second trimester pregnant women in California. Environmental science & technology. 2011 ; 45(18) : 7896-905.

Prenatal exposure to polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) may disrupt thyroid function and contribute to adverse neurodevelopmental outcomes. We conducted a pilot study to explore the relationship between serum concentrations of lower-brominated PBDEs (BDE-17 to -154), higher-brominated PBDEs (BDE-183 to 209), and hydroxylated PBDE metabolites (OH-PBDEs) with measures of thyroid function in pregnant women. Concentrations of PBDEs, OH-PBDEs, thyroid-stimulating hormone (TSH), total thyroxine (T(4)), and free T(4) were measured in serum samples collected between 2008 and 2009 from 25 second trimester pregnant women in California. Median concentrations of lower-brominated PBDEs and OH-PBDEs were the highest reported to date in pregnant women. Median concentrations of BDE-47 and the sum of lower-brominated PBDEs (Σ PBDE(5)) were 43.1 ng/g lipid and 85.8 ng/g lipid, respectively, and the sum of OH-PBDEs (Σ OH-PBDE(4)) was 0.084 ng/mL. We observed a positive association between the weighted sum of chemicals known to bind to transthyretin (Σ TTR binders) and TSH levels. We also found positive associations between TSH and Σ PBDE(5), Σ OH-PBDE(4), BDE-47, BDE-85, 5-OH-BDE-47, and 4'-OH-BDE-49, and an inverse association with BDE-207. Relationships with free and

total T(4) were weak and inconsistent. Our results indicate that PBDE exposures are elevated in pregnant women in California and suggest a relationship with thyroid function. Further investigation is warranted to characterize the risks of PBDE exposures during pregnancy.

Blanco J, Mulero M, Domingo JL, Sanchez DJ. Perinatal exposure to BDE-99 causes decreased protein levels of cyclin D1 via GSK3beta activation and increased ROS production in rat pup livers. Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology. 2014 ;137(2) : 491-8.

We here examined the potential liver toxicity in rat pups from dams exposed during the gestational and lactation periods to 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether (BDE-99). Dams were exposed to 0, 1, and 2mg/kg/day of BDE-99 from gestation day 6 to postnatal day 21. When the pups were weaning, the liver from 1 pup of each litter was excised to evaluate oxidative stress markers and the messenger RNA (mRNA) expression of multiple cytochrome P450 (CYP) isoforms. To determine whether thyroid hormone (TH) was disrupted, the protein and mRNA expressions of several TH receptor (TR) isoforms, as well as the protein levels of cyclin D1 and the phosphorylated protein kinases Akt and glycogen synthase kinase 3 beta (GSK3 β), were evaluated. Perinatal exposure to BDE-99 produced decreased levels of cyclin D1 in rat pup livers. A decrease in the active form of Akt and an increase in the active form of GSK3 β were observed. The decreased Akt pathway may be due to a potential disruption of the nongenomic actions of TH by BDE-99 and its metabolites. This possible TH disruption was noted as a decrease in TR isoforms expression. By contrast, we observed an upregulation of CYP2B1 gene expression, which is correlated with an increase in reactive oxygen species production. This outcome indicates activation of the nuclear constitutive androstane receptor, which could induce the expression of other enzymes capable of metabolizing TH. The present findings support the hypothesis that perinatal exposure to PBDEs, at levels found in humans, may have serious implications for metabolic processes in rat pup livers.

Reverte I, Pujol A, Domingo JL, Colomina MT. Thyroid hormones and fear learning but not anxiety are affected in adult apoE transgenic mice exposed postnatally to decabromodiphenyl ether (BDE-209). Physiology & behavior. 2014 ; 133 : 81-91.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are a family of industrial chemicals used as flame retardants. The fully brominated deca-BDE (BDE-209) is the most used and its potential risk for humans is controversial. The ability of PBDEs to target nervous and endocrine systems suggests multiple enduring effects after perinatal exposure. Cognitive and motor behavior alterations have been reported after developmental exposure to PBDEs, including BDE-209, whereas very little work has been carried out on anxiety and emotional learning. We have previously reported long-term effects of postnatal BDE-209 exposure on spatial memory dependent upon apolipoprotein E (apoE) polymorphism and age. ApoE is involved in lipid transport and its different polymorphisms (ϵ 2, ϵ 3, ϵ 4) confer different vulnerabilities to neurodegeneration, cognitive impairment and anxiety. In the present study we assessed the long term effects of early exposure to BDE-209 on anxiety, fear learning and thyroid hormone levels in mice carrying different apoE polymorphisms (ϵ 2, ϵ 3, ϵ 4). BDE-209 (0, 10 and 30 mg.kg⁻¹) was orally administered on postnatal day 10 (PND 10). At 4 and 12 months of age mice were tested in an open field (OF) and an elevated zero maze (EZM). Fear conditioning

and thyroid hormone levels were evaluated in mice at 5-6 months of age. Postnatal exposure to BDE-209 impaired cued fear learning in apoE2 and apoE3 mice. Levels of thyroid hormones were increased in apoE3 female mice exposed to BDE-209. Our findings indicate long lasting effects of BDE-209 on emotional learning and thyroid hormone levels after a single postnatal exposure.

Blanco J, Mulero M, Heredia L, Pujol A, Domingo JL, Sanchez DJ. Perinatal exposure to BDE-99 causes learning disorders and decreases serum thyroid hormone levels and BDNF gene expression in hippocampus in rat offspring. Toxicology. 2013 ; 308 : 122-8.

Exposure of pregnant women to polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) may mean serious health risks. The main goal of the present study was to examine the neurobehavioral changes in rat offspring that were perinatally exposed to one of the most prevalent PBDEs congeners found in humans, 2,2',4,4',5-pentaBDE (BDE-99). Rat dams were exposed to 0, 1 and 2mg/kg/day of BDE-99 from gestation day 6 to post-natal day 21. When pups were weaning, cortex and hippocampal gene expressions of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) of the different isoforms of the thyroid hormone (TH) receptors (TRs) were evaluated. Serum TH levels were also determined. The remaining pups were assessed by neurobehavioral testing for learning and memory function. The results showed that maternal transference of BDE-99 produced a delay in the spatial learning task in the water maze test. Moreover, the open-field test revealed a significant dose-response anxiolytic effect. It was also found that the serum levels of triiodothyronine (T3), tetraiodothyronine (T4) and free-T4 (FT4) decreased. Although no effect on the gene expression of the different isoforms of TRs was observed, the expression of the TH-mediated gene BDNF was down-regulated in the hippocampus. These results indicate a clear signal disruption of TH and reinforce previous studies in which neurotoxic effects of PBDEs in animal research were observed at levels comparable to those found in humans.

Maranghi F, Tassinari R, Moracci G, Altieri I, Rasinger JD, Carroll TS, et al. Dietary exposure of juvenile female mice to polyhalogenated seafood contaminants (HBCDD, BDE-47, PCB-153, TCDD) : comparative assessment of effects in potential target tissues. Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association. 2013 ; 56 : 443-9.

Fish represents source of nutrients and major dietary vehicle of lipophilic persistent contaminants. The study compared the effects of two legacy and two emerging fish pollutants (Hexabromocyclododecane HBCDD ; 2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether BDE-47 ; 2,2',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl PCB-153 ; 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin TCDD) in juvenile female mice exposed through a salmon based rodent diet for 28 days (dietary doses : HBCDD 199 mg.kg⁻¹ bw/day ; BDE-47 450 µg.kg⁻¹ bw/day; PCB-153 195 µg.kg⁻¹ bw/day ; TCDD 90 ng.kg⁻¹ bw/day). Dose levels were comparable to previously reported developmental Lowest Observed Adverse Effect Levels. None of the treatments elicited signs of overt toxicity, but HBCDD increased relative liver weight. All compounds caused changes in liver, thymus and thyroid ; spleen was affected by BDE-47 and PCB-153 ; no effects were seen in uterus and adrenals. Strongest effects in thyroid follicles were elicited by PCB-153, in thymus and liver by BDE-47. HBCDD and BDE-47 induced liver fatty changes, but appeared to be less potent in the other tissues. HBCDD, BDE-47 and TCDD increased

serum testosterone levels and the testosterone/estradiol ratio, suggesting a potential involvement of pathways related to sex steroid biosynthesis and/or metabolism. The results support the role of toxicological studies on juvenile rodents in the hazard characterization of chemicals, due to endocrine and/or immune effects.

Saegusa Y, Fujimoto H, Woo GH, Ohishi T, Wang L, Mitsumori K, et al. Transient aberration of neuronal development in the hippocampal dentate gyrus after developmental exposure to brominated flame retardants in rats. Archives of toxicology. 2012 ; 86(9) : 1431-42.

We immunohistochemically investigated the impact and reversibility of three brominated flame retardants (BFRs) known to be weak thyroid hormone disruptors on neuronal development in the hippocampal formation and apoptosis in the dentate subgranular zone. Pregnant Sprague-Dawley rats were exposed to 10, 100, or 1,000 ppm decabromodiphenyl ether (DBDE) ; 100, 1,000 or 10,000 ppm tetrabromobisphenol A (TBBPA) or 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCDD) in the diet from gestational day 10 through to day 20 after delivery (weaning). On postnatal day (PND) 20, interneurons in the dentate hilus-expressing reelin increased with all chemicals, suggestive of aberration of neuronal migration. However, this increase had disappeared by PND 77. NeuN-positive mature neurons increased in the hilus on PND 77 with all chemicals. In the subgranular zone on PND 20, an increase in apoptotic bodies suggestive of impaired neurogenesis was observed after exposure to TBBPA or HBCDD. The effects on neuronal development were detected at doses of ≥ 100 ppm DBDE ; $\geq 1,000$ ppm TBBPA; and at least at 10,000 ppm HBCDD. On PND 20, the highest dose of DBDE and HBCDD revealed mild fluctuations in the serum concentrations of thyroid-related hormones suggestive of weak developmental hypothyroidism, while TBBPA did not. Thus, DBDE and TBBPA may exert direct effect on neuronal development in the brain, but hypothyroidism may be operated for DBDE and HBCDD at high doses. An excess of mature neurons in the hilus at later stages may be the signature of the developmental effects of BFRs. However, the effect itself was reversible.

Lee E, Kim TH, Choi JS, Nabanata P, Kim NY, Ahn MY, et al. Evaluation of liver and thyroid toxicity in Sprague-Dawley rats after exposure to polybrominated diphenyl ether BDE-209. The Journal of toxicological sciences. 2010 ; 35(4) : 535-45.

Our goal in the present study was to evaluate whether decabromodiphenyl ether (BDE-209), which is the most abundant polybrominated diphenyl ether (PBDE) found in human samples, affects against target organs. Sprague-Dawley male rats were exposed to vehicle or BDE-209 (100, 300, or 600 mg.kg⁻¹ body weight, daily) from postnatal day (PND) 10 to PND 42. There was no significant difference in body and male reproductive organ weight changes compared with controls. However, liver, thyroid and adrenal gland weights were significantly increased in the high-dose of BDE-209 group. BDE-209 significantly induced the expression of cytochrome P450 (CYP1A2, CYP3A1, and CYP2B1) enzymes in the liver. Furthermore, constitutive androstane receptor (CAR) and pregnane xenobiotic receptor (PXR) expression levels were also increased in a dose-dependent manner. Total serum triiodothyronine (T3) concentration was significantly reduced in a dose-dependent manner, whereas the level of thyroid-stimulating hormone was significantly increased with BDE-209 treatment. In the histological findings, multiple areas of degenerated follicular epithelium and slight attenuation of the follicular epithelium were observed in the thyroid glands by high doses (300 and 600

mg.kg⁻¹) of BDE-209 treatment. The presence of hepatocytic fatty degeneration and inflammatory foci were also observed in the 300 and 600 mg.kg⁻¹ of BDE-209 group. These findings demonstrate that BDE-209 induces hyperthyroidism and hepatotoxicity. In the future, further research is needed to determine the relationship between target organ toxicity and blood concentrations of BDE-209.

Liu et al. (2010) Effects of 2,2',4,4'-tetrabrominated diphenyl ethers on the TRalpha1 and TRbeta1 expression in liver in C57BL/6 mice, Journal of hygiene research, Volume 39, Issue 4, July 2010, Pages 399-403

Objective : to study the effect of 2,2',4,4'-tetrabrominated diphenyl ethers (BDE-47) on the expression change of TRalpha1, TRbeta1 at both mRNA and protein levels.

Methods : C57BL/6 mice were divided randomly into 4 groups and administrated with corn oil, 0.5, 5 and 50 mg/kg/BW BDE-47 for 4 days through intraperitoneal injection respectively. GAPDH selected as internal standard, real time quantitative RT-PCR and Western blot were employed to detect the mRNA levels and protein of TRalpha1 and TRbeta1 in livers.

Results : compared with the control group, the mRNA levels of TRalpha1 and TRbeta1 were up-regulated in the medium and high BDE-47 dose groups ($p < 0.05$). The protein level of TRalpha1 significantly up-regulated while TRbeta1 was significantly down-regulated.

Conclusion : BDE-47 could change the expression of TRalpha1 and TRbeta1 in the mRNA and protein levels in liver.

Roberts SC, Bianco AC, Stapleton HM. Disruption of type 2 iodothyronine deiodinase activity in cultured human glial cells by polybrominated diphenyl ethers. Chemical research in toxicology. 2015 ; 28(6) : 1265-74.

Polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants are endocrine disruptors and suspected neurodevelopmental toxicants. While the direct mechanisms of neurodevelopmental toxicity have not been fully elucidated, it is conceivable that alterations in thyroid hormone levels in the developing brain may contribute to these effects. Cells within the brain locally convert thyroxine (T4) to the biologically active triiodothyronine (T3) through the action of the selenodeiodinase type 2 iodothyronine deiodinase (DIO2). Previous studies have demonstrated that PBDEs can alter hepatic deiodinase activity both in vitro and in vivo; however, the effects of PBDEs on the deiodinase isoforms expressed in the brain are not well understood. Here, we studied the effects of several individual PBDEs and hydroxylated metabolites (OH-BDEs) on DIO2 activity in astrocytes, a specialized glial cell responsible for production of more than 50% of the T3 required by the brain. Primary human astrocytes and H4 glioma cells were exposed to individual PBDEs or OH-BDEs at concentrations up to 5 µM. BDE-99 decreased DIO2 activity by 50% in primary astrocyte cells and by up to 80% in the H4 cells at doses of ≥500 nM. 3-OH-BDE-47, 6-OH-BDE-47, and 5'-OH-BDE-99 also decreased DIO2 activity in cultured H4 glioma cells by 45-80% at doses of approximately 1-5 µM. Multiple mechanisms appear to contribute to the decreased DIO2 activity, including weakened expression of DIO2 mRNA, competitive inhibition of DIO2, and enhanced post-translational degradation of DIO2. We conclude that decreases in DIO2 activity caused by exposure to PBDEs may play a role in the neurodevelopmental deficits caused by these toxicants.

Hu X, Zhang J, Jiang Y, Lei Y, Lu L, Zhou J, et al. Effect on metabolic enzymes and thyroid receptors induced by BDE-47 by activation the pregnane X receptor in HepG2, a human hepatoma cell line. Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA. 2014 ; 28(8) : 1377-85.

2,2',4,4'-Tetra-bromodiphenyl ether (BDE-47), an important congener among polybrominated diphenyl ether (PBDE) compounds, has been predominantly in environmental samples and human tissue. Thyroid disruption is the most sensitive endpoint effect among a number of health effects of exposure to BDE-47 in animals and humans. However, the detailed underlying mechanisms in humans are not well understood. In the present study, human pregnane X receptor (hPXR)-overexpressing HepG2 cell model and a dual-luciferase reporter assay system were constructed to investigate the role of hPXR in BDE-47-induced alterations of expression of metabolic enzymes and TR in vitro. The results showed that hPXR was significantly activated by BDE-47, and expression levels of both mRNA and protein of the thyroid receptor (TR) isoforms TR α 1 and TR β 1 were decreased in hPXR-overexpressing HepG2 cells after BDE-47 treatment. However, the increased expression of hepatic microsomal phase I enzyme CYP3A4 and phase II enzymes, UGT1A3 and SULT2A1 were also found. Taken together, the results indicated that BDE-47 was a strong hPXR activator, activation of hPXR played an important role in BDE-47-induced down-regulation of TR, and up-regulations of CYP3A4, UGT1A3, and SULT2A1 participated in the process, which may provide more toxicological evidence on mechanisms of disruption of thyroid hormone induced by BDE-47.

Nakamura N, Matsubara K, Sanoh S, Ohta S, Uramaru N, Kitamura S, et al. Cell type-dependent agonist/antagonist activities of polybrominated diphenyl ethers. Toxicology letters. 2013 ; 223(2) : 192-7.

There have been many concerns expressed regarding the possible adverse effects of thyroid hormone-disrupting chemicals including polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), since thyroid hormones play crucial roles in normal vertebrate development. A vast amount of PBDEs have been used as flame retardants for the last two decades and our environment has been contaminated with them. Some PBDEs, especially hydroxylated PBDEs, reportedly show an affinity to the thyroid hormone receptor (TR) and act as thyroid hormone agonists, but in other studies they were reported to inhibit the actions of thyroid hormones. Therefore, in the present study, we investigated the binding affinities of PBDEs and their metabolites to TR and their ability to induce thyroid hormone-responsive transcription using luciferase reporter gene assays in two different cell lines, a pituitary cell line, MtT/E-2, and Chinese hamster ovary (CHO) cells. The binding assay showed that many of the examined PBDEs have significant affinity to TR. Interestingly, some of these PBDEs, such as 4'-OH-BDE-17 and 2'-OH-BDE-28, acted as agonists in the reporter gene assay in MtT/E-2 cells, while they acted as antagonists in CHO cells. Our results demonstrated that whether PBDEs and their metabolites are TR agonists or antagonists depends on the cell type used in the assay, which may suggest that the thyroid hormone-disrupting actions of PBDEs differ among target tissues or species.

Ren XM, Guo LH, Gao Y, Zhang BT, Wan B. Hydroxylated polybrominated diphenyl ethers exhibit different activities on thyroid hormone receptors depending on their degree of bromination. Toxicology and applied pharmacology. 2013 ; 268(3) : 256-63.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) have been shown to disrupt thyroid hormone (TH) functions in experimental animals, and one of the proposed disruption mechanisms is direct binding of hydroxylated PBDE (OH-PBDE) to TH receptors (TRs). However, previous data on TH receptor binding and TH activity of OH-PBDEs were very limited and sometimes inconsistent. In the present paper, we examined the binding potency of ten OH-PBDEs with different degrees of bromination to TR using a fluorescence competitive binding assay. The results showed that the ten OH-PBDEs bound to TR with potency that correlated to their bromination level. We further examined their effect on TR using a coactivator binding assay and GH3 cell proliferation assay. Different TR activities of OH-PBDEs were observed depending on their degree of bromination. Four low-brominated OH-PBDEs (2'-OH-BDE-28, 3'-OH-BDE-28, 5-OH-BDE-47, 6-OH-BDE-47) were found to be TR agonists, which recruited the coactivator peptide and enhanced GH3 cell proliferation. However, three high-brominated OH-PBDEs (3-OH-BDE-100, 3'-OH-BDE-154, 4-OH-BDE-188) were tested to be antagonists. Molecular docking was employed to simulate the interactions of OH-PBDEs with TR and identify the structural determinants for TR binding and activity. According to the docking results, low-brominated OH-PBDEs, which are weak binders but TR agonists, bind with TR at the inner side of its binding pocket, whereas high-brominated compounds, which are potent binders but TR antagonists, reside at the outer region. These results indicate that OH-PBDEs have different activities on TR (agonistic or antagonistic), possibly due to their different binding geometries with the receptor.

Ren XM, Guo LH. Assessment of the binding of hydroxylated polybrominated diphenyl ethers to thyroid hormone transport proteins using a site-specific fluorescence probe. *Environmental science & technology*. 2012 ; 46(8) : 4633-40.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) have been shown to disrupt thyroid hormone (TH) functions on experimental animals, and one of the proposed disruption mechanisms is the competitive binding of PBDE metabolites to TH transport proteins. In this report, a nonradioactive, site-specific fluorescein-thyroxine (F-T4) conjugate was designed and synthesized as a fluorescence probe to study the binding interaction of hydroxylated PBDEs to thyroxine-binding globulin (TBG) and transthyretin (TTR), two major TH transport proteins in human plasma. Compared with free F-T4, the fluorescence intensity of TTR-bound conjugate was enhanced by as much as 2-fold, and the fluorescence polarization value of TBG-bound conjugate increased by more than 20-fold. These changes provide signal modulation mechanisms for F-T4 as a fluorescence probe. Based on fluorescence quantum yield and lifetime measurements, the fluorescence intensity enhancement was likely due to the elimination of intramolecular fluorescence quenching of fluorescein by T4 after F-T4 was bound to TTR. In circular dichroism and intrinsic tryptophan fluorescence measurements, F-T4 induced similar spectroscopic changes of the proteins as T4 did, suggesting that F-T4 bound to the proteins at the T4 binding site. By using F-T4 as the fluorescence probe in competitive binding assays, 11 OH-PBDEs with different levels of bromination and different hydroxylation positions were assessed for their binding affinity with TBG and TTR, respectively. The results indicate that the binding affinity generally increased with bromine number and OH position also played an important role. 3-OH-BDE-47 and 3'-OH-BDE-154 bound to TTR and TBG even stronger, respectively, than T4. With rising environmental level and high bioaccumulation capability, PBDEs have the potential to disrupt thyroid homeostasis by competitive binding with TH transport proteins.

Blanco J, Mulero M, Lopez M, Domingo JL, Sanchez DJ. BDE-99 deregulates BDNF, Bcl-2 and the mRNA expression of thyroid receptor isoforms in rat cerebellar granular neurons. Toxicology. 2011 ; 290(2-3) : 305-11.

Although the disruption of thyroid hormone (TH) signaling can largely explain the neurotoxic effects of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), there are still many unknowns about how this interference occurs. In this study, we expose a primary culture of rat cerebellar granule neurons (CGNs) to a 25µM concentration of one of the most prevalent PBDE congeners in humans, 2, 2', 4, 4', 5-pentaBDE (BDE-99). The main goal was to investigate the time course of BDE-99 toxicity in relation to the disruption of thyroid receptor (TR) function over 24h. In a first stage, we found that BDE-99 directly down-regulated the transcription of the isoforms TR-alpha1 and TR-alpha2, which may be a consequence of a hypothetical state that mimics hyperthyroidism. In a later stage, BDE-99 disrupted the expression of triiodothyronine (T3)-responsive genes, possibly as an effect of its metabolism. A down-regulation of the expression of the T3-mediated neurotrophin brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and the anti-apoptotic Bcl-2 protein was also observed. Down-regulation of these two proteins was correlated with an increase in the production of reactive oxygen species (ROS). It was also found that expression of the TR-beta1 isoform, which is normally transcriptionally repressed by T3 in CGNs, was up-regulated. This up-regulation could compensate the down-regulation of the TR-alpha1 isoform, and thus slow down cell death. The dually disruptive action of BDE-99 might provide a better understanding of the potentially neurotoxic mechanism of PBDEs.

Butt CM, Wang D, Stapleton HM. Halogenated phenolic contaminants inhibit the in vitro activity of the thyroid-regulating deiodinases in human liver. Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology. 2011 ; 124(2) : 339-47.

Halogenated contaminants, particularly brominated flame retardants, disrupt circulating levels of thyroid hormones (THs), potentially affecting growth and development. Disruption may be mediated by impacts on deiodinase (DI) activity, which regulate the levels of active hormones available to bind to nuclear receptors. The goal of this study was to develop a mass spectrometry-based method for measuring the activity of DIs in human liver microsomes and to examine the effect of halogenated phenolic contaminants on DI activity. Thyroxine (T4) and reverse triiodothyronine (rT3) deiodination kinetics were measured by incubating pooled human liver microsomes with T4 or rT3 and monitoring the production of T3, rT3, 3,3'-diiodothyronine, and 3-monoiodothyronine by liquid chromatography tandem mass spectrometry. Using this method, we examined the effects of several halogenated contaminants, including 2, 2', 4, 4', 5-pentabromodiphenyl ether (BDE-99), several hydroxylated polybrominated diphenyl ethers (OH-BDEs), tribromophenol, tetrabromobisphenol A, and triclosan, on DI activity. The Michaelis constants (K(M)) of rT3 and T4 deiodination were determined to be 3.2 ± 0.7 and $17.3 \pm 2.3\mu\text{M}$. The V(max) was 160 ± 5.8 and 2.8 ± 0.10 pmol/min.mg protein, respectively. All studied contaminants inhibited DI activity in a dose-response manner, with the exception of BDE-99 and two OH-BDEs. 5'-Hydroxy 2, 2', 4, 4', 5-pentabromodiphenyl ether was found to be the most potent inhibitor of DI activity, and phenolic structures containing iodine were generally more potent inhibitors of DI activity relative to brominated, chlorinated, and fluorinated analogues. This study suggests that some halogenated phenolics, including current use compounds such as plastic

monomers, flame retardants, and their metabolites, may disrupt TH homeostasis through the inhibition of DI activity in vivo.

Ibhazehiebo K, Iwasaki T, Xu M, Shimokawa N, Koibuchi N. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) ameliorates the suppression of thyroid hormone-induced granule cell neurite extension by hexabromocyclododecane (HBCDD). *Neuroscience letters*. 2011 ; 493(1-2) : 1-7.

Thyroid hormone (TH) plays an essential role in growth and differentiation of the central nervous system. Deficiency of TH during perinatal period results in abnormal brain development known as cretinism in human. We recently reported that an environmental chemical 1,2,5,6,9,10- α -hexabromocyclododecane (HBCDD) suppressed TH receptor (TR)-mediated transcription. To examine the effect of HBCDD on cerebellar granule cells, we used purified rat cerebellar granule cells in reaggregate culture. Low dose HBCDD (10⁻¹⁰ M) significantly suppressed TH-induced neurite extension of granule cell aggregate. To clarify further the mechanisms of such suppression, we added brain-derived neurotrophic factor (BDNF) into culture medium, since BDNF plays a critical role in promoting granule cell development and is regulated by TH. BDNF completely rescued HBCDD-induced suppression of granule cell neurite extension in the presence of T3. These results indicate that HBCDD may disrupt TH-mediated brain development at least in part due to a disruption of the T3 stimulated increase in BDNF and BDNF may possess ability to ameliorate the effect of HBCDD in granule cells.

Suvorov A, Bissonnette C, Takser L, Langlois MF. Does 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether interact directly with thyroid receptor? *Journal of applied toxicology : JAT*. 2011 ; 31(2) : 179-84.

2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) is a flame-retardant chemical appearing at increasing concentrations and frequency in the environment and human samples. A number of health effects of exposure to BDE-47 have been observed, thyroid disruption being the most sensitive. Our objective was to examine BDE-47 interaction with thyroid receptor beta (TR β). We used a variety of approaches, including in vitro binding assays, luciferase reporter-gene transcriptional assays, and analysis of expression of thyroid responsive genes in rat offspring exposed perinatally to BDE-47. We found that BDE-47 alone or in mixture with 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether (BDE-99), 2,2',4,4',6-pentabromodiphenyl ether (BDE-100), and 2,2',4,4',5,5'-hexabromodiphenyl ether (BDE-153) does not compete with [(125)I]T(3) for TR β -binding even at 4000 fold higher concentrations. Also, BDE-47 does not affect thyroid responsive genes through TR β in in vitro studies of transcription regulation. A subset of thyroid responsive genes were significantly differentially expressed in liver and frontal lobe brain samples of exposed pups, however, the action of BDE-47 was neither agonistic or antagonistic to that of thyroid hormone. We conclude that BDE-47 does not interact directly with TR β 1 nor does it influence its transcriptional activity. Developmental exposure of rats to BDE-47 leads to differential expression of thyroid responsive genes in liver and brain due to unknown mechanism.

Schreiber T, Gassmann K, Gotz C, Hubenthal U, Moors M, Krause G, et al. Polybrominated diphenyl ethers induce developmental neurotoxicity in a human in

vitro model : evidence for endocrine disruption. Environmental health perspectives. 2010 ; 118(4) : 572-8

Background : polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are persistent and bioaccumulative flame retardants, which are found in rising concentrations in human tissues. They are of concern for human health because animal studies have shown that they possess the potential to be developmentally neurotoxic.

Objective : because there is little knowledge of the effects of PBDEs on human brain cells, we investigated their toxic potential for human neural development *in vitro*. Moreover, we studied the involvement of thyroid hormone (TH) disruption in the effects caused by PBDEs.

Methods : we used the two PBDE congeners BDE-47 and BDE-99 (0.1-10 microM), which are most prominent in human tissues. As a model of neural development, we employed primary fetal human neural progenitor cells (hNPCs), which are cultured as neurospheres and mimic basic processes of brain development *in vitro* : proliferation, migration, and differentiation.

Results : PBDEs do not disturb hNPC proliferation but decrease migration distance of hNPCs. Moreover, they cause a reduction of differentiation into neurons and oligodendrocytes. Simultaneous exposure with the TH receptor (THR) agonist triiodothyronine rescues these effects on migration and differentiation, whereas the THR antagonist NH-3 does not exert an additive effect.

Conclusion : PBDEs disturb development of hNPCs *in vitro* via endocrine disruption of cellular TH signaling at concentrations that might be of relevance for human exposure.

Fair PA, Stavros HC, Mollenhauer MA, DeWitt JC, Henry N, Kannan K, et al. Immune function in female B(6)C(3)F(1) mice is modulated by DE-71, a commercial polybrominated diphenyl ether mixture. Journal of immunotoxicology. 2012 ; 9(1) : 96-107.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are an important class of flame-retardants that are environmentally persistent and bioaccumulative. Toxicity of these compounds has become a concern because detectable levels of PBDEs are present in humans and wildlife and they are structurally similar to polychlorinated biphenyls (PCBs). This study examined the effects of the commercial penta-BDE mixture, DE-71, in adult female B(6)C(3)F(1) mice on hematology, serum clinical chemistry, thyroid hormones, tissue histology, and several immunotoxicity end-points (lymphocyte proliferation, NK cell activity, splenic immunophenotypes, and SRBC-specific-IgM production). Mice were exposed via oral gavage for 28 days to achieve total administered doses (TAD) of 0 ; 0,5 ; 5 ; 50 or 100 mg.kg⁻¹. No changes in histology, clinical chemistry, body or organ weights were observed. Serum total T3 and T4 levels were not altered by any of the DE-71 treatments. Peripheral blood monocyte numbers were decreased by the 0,5 ; 5 and 50 mg.kg⁻¹ treatments, but not by the 100 mg.kg⁻¹ TAD concentration. Compared to controls, mitogen-stimulated T- and B-cell proliferation was increased by the 100 mg.kg⁻¹ TAD concentration (ED(50) = 60 mg.kg⁻¹ TAD [2.14 mg/kg/day] and 58 mg.kg⁻¹ TAD [2.57 mg/kg/day], respectively). NK cell activity was decreased compared to controls by the 100 mg.kg⁻¹ TAD concentration (ED(50) = 20 mg.kg⁻¹ TAD [0.7 mg/kg/day]). No alterations were noted in thymic T-cell populations or in SRBC-specific-IgM production. Numbers of CD19(+)CD21(-), CD19(+)CD21(+), CD4(+)CD8(-), CD4(-)CD8(+), CD4(-)CD8(-), and MHC-II(+) cells in the spleen were not affected. However, the numbers of splenic CD4(+)CD8(+) cells were decreased compared to the controls by 0.5,

5, and 100 mg.kg⁻¹ TAD. This study provides an assessment of the systemic toxicity and immunotoxicity of DE-71, and indicates that immune parameters are modulated at exposure concentrations lower than previously reported.

Choi JS, Lee YJ, Kim TH, Lim HJ, Ahn MY, Kwack SJ, et al. Molecular Mechanism of Tetrabromobisphenol A (TBBPA)-induced Target Organ Toxicity in Sprague-Dawley Male Rats. *Toxicological research*. 2011 ; 27(2) : 61-70.

Brominated flame retardants (BFRs) are present in many consumer products ranging from fabrics to plastics and electronics. Wide use of flame retardants can pose an environmental hazard, which makes it important to determine the mechanism of their toxicity. In the present study, dose-dependent toxicity of tetrabromobisphenol A (TBBPA), a flame retardant, was examined in male prepubertal rats (postnatal day 18) treated orally with TBBPA at 0, 125, 250 or 500 mg.kg⁻¹ for 30 days. There were no differences in body weight gain between the control and TBBPA-treated groups. However, absolute and relative liver weights were significantly increased in high dose of TBBPA-treated groups. TBBPA treatment led to significant induction of CYP2B1 and constitutive androstane receptor (CAR) expression in the liver. In addition, serum thyroxin (T4) concentration was significantly reduced in the TBBPA treated group. These results indicate that repeated exposure to TBBPA induces drug-metabolising enzymes in rats through the CAR signaling pathway. In particular, TBBPA efficiently produced reactive oxygen species (ROS) through CYP2B1 induction in rats. We measured 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG), a biomarker of DNA oxidative damage, in the kidney, liver and testes of rats following TBBPA treatment. As expected, TBBPA strongly induced the production of 8-OHdG in the testis and kidney. These observations suggest that TBBPA-induced target organ toxicity may be due to ROS produced by metabolism of TBBPA in Sprague- Dawley rats.

Wang F, Liu W, Jin Y, Dai J, Zhao H, Xie Q, et al. Interaction of PFOS and BDE-47 co-exposure on thyroid hormone levels and TH-related gene and protein expression in developing rat brains. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*. 2011 ; 121(2) : 279-91.

Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) are two persistent environmental contaminants that are toxic to developing nervous systems, particularly via their disruption of thyroid hormone (TH) function. To investigate whether an interaction existed between PFOS and BDE-47 on TH-mediated pathways, adult female Wistar rats were exposed to 3.2 and 32 mg.kg⁻¹ of PFOS or BDE-47 in their diet and co-exposed to a combination of each chemical (3.2 mg.kg⁻¹) from gestational day 1 to postnatal day (PND) 14. Serum and brain tissues from both male and female neonates were collected on PNDs 1, 7, and 14 to examine TH-regulated gene and protein expression. The results revealed that (1) a significant accumulation difference occurred between the two chemicals; (2) On a equimolar basis, BDE-47 and PFOS affected serum total triiodothyronine and total thyroxine differently in adults and offspring; (3) there were region-specific and exposure- and timedependent alterations in TH concentrations and tested gene and protein expression levels; and (4) interaction for the combined chemicals was only observed for brain-derived neurotrophic factor (BDNF), which exhibited a synergistic effect on PND 1 in the cortex and an antagonistic effect on PND 14 in the hippocampus. Our results suggest a complex TH-mediated gene and protein response to BDE-47 and/or PFOS exposure that seems little

related to TH homeostasis and that little combined interaction of co-exposures was observed except on BDNF. The underlying mechanisms remain uncertain but seem to involve more actions than just TH-regulated pathway.

Tung EW, Boudreau A, Wade MG, Atlas E. Induction of adipocyte differentiation by polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in 3T3-L1 cells. PLoS One. 2014 ; 9(4) : e94583.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are a class of brominated flame retardants that were extensively used in commercial products. PBDEs are ubiquitous environmental contaminants that are both lipophilic and bioaccumulative. Effects of PBDEs on adipogenesis were studied in the 3T3-L1 preadipocyte cell model in the presence and absence of a known adipogenic agent, dexamethasone (DEX). A PBDE mixture designed to mimic body burden of North Americans was tested, in addition to the technical mixture DE-71 and the individual congener BDE-47. The mixture, DE-71, and BDE-47 all induced adipocyte differentiation as assessed by markers for terminal differentiation [fatty acid binding protein 4 (aP2) and perilipin] and lipid accumulation. Characterization of the differentiation process in response to PBDEs indicated that adipogenesis induced by a minimally effective dose of DEX was enhanced by these PBDEs. Moreover, C/EBP α , PPAR γ , and LXR α were induced late in the differentiation process. Taken together, these data indicate that adipocyte differentiation is induced by PBDEs; they act in the absence of glucocorticoid and enhance glucocorticoid-mediated adipogenesis.

Bastos Sales L, Kamstra JH, Cenijn PH, van Rijt LS, Hamers T, Legler J. Effects of endocrine disrupting chemicals on in vitro global DNA methylation and adipocyte differentiation. Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA. 2013 ; 27(6) : 1634-43.

Recent studies suggest that endocrine disrupting chemicals (EDCs) may form a risk factor for obesity by altering energy metabolism through epigenetic gene regulation. The goal of this study is to investigate the effects of a range of EDCs with putative obesogenic properties on global DNA methylation and adipocyte differentiation *in vitro*. Murine N2A and human SK-N-AS neuroblastoma cells and murine preadipocyte fibroblasts (3T3-L1) were exposed to tributyltin (TBT), diethylstilbestrol (DES), bisphenol A (BPA), 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-[p]-dioxin (TCDD), 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (PCB-153), hexachlorobenzene (HCB), hexabromocyclododecane (HBCDD), 2,2',4,4'-tetrabrominated diphenyl ether (BDE-47), perfluorinated octyl acid (PFOA) and perfluorinated octyl sulfonate (PFOS). A modest decrease in global DNA methylation was observed in N2A cells exposed to 10 μ M DES, BPA, TCDD, BDE-47, PCB-153 and 1 μ M HCB, but no changes were found in the human SK-N-AS cells. We reveal for the first time that BDE-47 increases adipocyte differentiation in a dose-dependent manner (2.5-25 μ M). Adipocyte differentiation was also enhanced by TBT (\geq 10 nM) and BPA (> 10 μ M) and inhibited by TCDD (\geq 0.1 nM). The other chemicals showed either modest or no effects on adipocyte differentiation at the concentrations tested (PFOA, PFOS and HBCDD at 10 μ M; PCB-153, 3.4 μ M and HCB, 1 μ M). This study demonstrates that selected EDCs can induce functional changes in murine adipocyte differentiation *in vitro* which are accompanied by decreased global DNA methylation.

Fang M, Webster TF, Ferguson PL, Stapleton HM. Characterizing the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR γ) ligand binding potential of several major flame retardants, their metabolites, and chemical mixtures in house dust. *Environmental health perspectives*. 2015 ; 123(2) : 166-72.

Background : accumulating evidence has shown that some environmental contaminants can alter adipogenesis and act as obesogens. Many of these contaminants act via the activation of the peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) nuclear receptor.

Objectives : our goal was to determine the PPAR γ ligand binding potency of several major flame retardants, including polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), halogenated phenols and bisphenols, and their metabolites. Ligand binding activity of indoor dust and its bioactivated extracts were also investigated.

Methods : we used a commercially available fluorescence polarization ligand binding assay to investigate the binding potency of flame retardants and dust extracts to human PPAR γ ligand-binding domain. Rosiglitazone was used as a positive control.

Results : most of the tested compounds exhibited dose-dependent binding to PPAR γ . Mono(2-ethylhexyl) tetrabromophthalate, halogenated bisphenols and phenols, and hydroxylated PBDEs were found to be potent PPAR γ ligands. The most potent compound was 3-OH-BDE-47, with an IC₅₀ (concentration required to reduce effect by 50%) of 0.24 μ M. The extent of halogenation and the position of the hydroxyl group strongly affected binding. In the dust samples, 21 of the 24 samples tested showed significant binding potency at a concentration of 3 mg dust equivalent (DEQ)/mL. A 3-16% increase in PPAR γ binding potency was observed following bioactivation of the dust using rat hepatic S9 fractions.

Conclusion : our results suggest that several flame retardants are potential PPAR γ ligands and that metabolism may lead to increased binding affinity. The PPAR γ binding activity of house dust extracts at levels comparable to human exposure warrants further studies into agonistic or antagonistic activities and their potential health effects.

Honkisz E, Wojtowicz AK. The role of PPAR γ in TBBPA-mediated endocrine disrupting effects in human choriocarcinoma JEG-3 cells. *Molecular and cellular biochemistry*. 2015 ; 409(1-2) : 81-91.

The goal of the present study was to investigate the action of TBBPA on PPAR γ protein expression in vitro in human choriocarcinoma-derived placental JEG-3 cells. We also analyzed TBBPA for its action on placental secretion of progesterone and β -hCG, cell viability, and apoptosis. Our results showed that after TBBPA treatment at 10 nM and 10 μ M, PPAR γ protein expression increased in a time-dependent manner until 48 h and then slightly decreased at 72 h but was still above the control level. This alteration in PPAR γ protein expression was accompanied by a decreased β -hCG level. Interestingly, co-treatment with the PPAR γ antagonist GW9662 reversed the TBBPA-mediated changes in PPAR γ protein expression but, according to β -hCG secretion, potentiated an inhibitory effect of TBBPA. Additionally, in our study, we assessed the ability of TBBPA to increase progesterone levels in JEG-3 cells compared with those of controls. Finally, in the present study, we demonstrated that TBBPA at all of the tested doses significantly increased caspase-3 activity compared with that of the vehicle control. The apoptotic action of TBBPA was also confirmed by Hoechst 33342 staining. These results showed the up-regulation of PPAR γ protein expression after TBBPA exposure in human placental cells. Although co-treatment with antagonist of PPAR γ reversed the TBBPA-mediated increase in this protein expression and

restored it to the control level, it did not reverse the effect on β -hCG secretion. This indicated that the mechanism of TBBPA-induced changes in β -hCG secretion is PPAR γ -independent.

Watt J, Schlezinger JJ. Structurally-diverse, PPAR γ -activating environmental toxicants induce adipogenesis and suppress osteogenesis in bone marrow mesenchymal stromal cells. *Toxicology*. 2015 ; 331 : 66-77.

Environmental obesogens are a newly recognized category of endocrine disrupting chemicals that have been implicated in contributing to the rising rates of obesity in the United States. While obesity is typically regarded as an increase in visceral fat, adipocyte accumulation in the bone has been linked to increased fracture risk, lower bone density, and osteoporosis. Exposure to environmental toxicants that activate peroxisome proliferator activated receptor γ (PPAR γ), a critical regulator of the balance of differentiation between adipogenesis and osteogenesis, may contribute to the increasing prevalence of osteoporosis. However, induction of adipogenesis and suppression of osteogenesis are separable activities of PPAR γ , and ligands may selectively alter these activities. It currently is unknown whether suppression of osteogenesis is a common toxic endpoint of environmental PPAR γ ligands. Using a primary mouse bone marrow culture model, we tested the hypothesis that environmental toxicants acting as PPAR γ agonists divert the differentiation pathway of bone marrow-derived multipotent mesenchymal stromal cells towards adipogenesis and away from osteogenesis. The toxicants tested included the organotin tributyltin and triphenyltin, a ubiquitous phthalate metabolite (mono-(2-ethylhexyl) phthalate, MEHP), and two brominated flame retardants (tetrabromobisphenol-a, TBBPA, and mono-(2-ethylhexyl) tetrabromophthalate, METBP). All of the compounds activated PPAR γ 1 and 2. All compounds increased adipogenesis (lipid accumulation, Fbp4 expression) and suppressed osteogenesis (alkaline phosphatase activity, Osx expression) in mouse primary bone marrow cultures, but with different potencies and efficacies. Despite structural dissimilarities, there was a strong negative correlation between efficacies to induce adipogenesis and suppress osteogenesis, with the organotins being distinct in their exceptional ability to suppress osteogenesis. As human exposure to a mixture of toxicants is likely, albeit at low doses, the fact that multiple toxicants are capable of suppressing bone formation supports the hypothesis that environmental PPAR γ ligands represent an emerging threat to human bone health.

Kamstra JH, Hruha E, Blumberg B, Janesick A, Mandrup S, Hamers T, et al. Transcriptional and epigenetic mechanisms underlying enhanced in vitro adipocyte differentiation by the brominated flame retardant BDE-47. *Environmental science & technology*. 2014 ; 48(7) : 4110-9.

Recent studies suggest that exposure to endocrine-disrupting compounds (EDCs) may play a role in the development of obesity. EDCs such as the flame retardant 2,2',4,4'-tetrabrominated diphenyl ether (BDE-47) have been shown to enhance adipocyte differentiation in the murine 3T3-L1 model. The mechanisms by which EDCs direct preadipocytes to form adipocytes are poorly understood. Here, we examined transcriptional and epigenetic mechanisms underlying the induction of in vitro adipocyte differentiation by BDE-47. Quantitative high content microscopy revealed concentration-dependent enhanced adipocyte differentiation following exposure to BDE-47 or the antidiabetic drug troglitazone (TROG). BDE-47 modestly activated the key adipogenic transcription factor peroxisome

proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) in COS7 cells, transiently transfected with a GAL4 reporter construct. Increased gene expression was observed for Ppar γ 2, leptin (Lep), and glucose-6-phosphatase catalytic subunit (G6pc) in differentiated 3T3-L1 cells after BDE-47 exposure compared to TROG. Methylation-sensitive high resolution melting (MS-HRM) revealed significant demethylation of three CpG sites in the Ppar γ 2 promoter after exposure to both BDE-47 and TROG in differentiated 3T3-L1 cells. This study shows the potential of BDE-47 to induce adipocyte differentiation through various mechanisms that include Ppar γ 2 gene induction and promoter demethylation accompanied by activation of PPAR γ , and possible disruption of glucose homeostasis and IGF1 signaling.

Wojtowicz AK, Szychowski KA, Kajta M. PPAR-gamma agonist GW1929 but not antagonist GW9662 reduces TBBPA-induced neurotoxicity in primary neocortical cells. Neurotoxicity research. 2014 ; 25(3) : 311-22.

Tetrabromobisphenol A (2,2-bis(4-hydroxy-3,5-dibromophenyl)propane ; TBBPA) is a widely used brominated flame retardant. TBBPA induces neuronal damage, but the mechanism by which this occurs is largely unknown. We studied the possible involvement of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR- γ) in TBBPA-induced apoptosis and toxicity in mouse primary neuronal cell cultures. TBBPA enhanced both, caspase-3 activity and lactate dehydrogenase (LDH) release in neocortical cells after 6 and 24 h of exposition. These data were supported at the cellular level with Hoechst 33342 staining. Immunoblot analyses showed that, compared with control cells, 10 μ M TBBPA decreased the expression of PPAR- γ protein in neocortical neurons after 1-24 h of exposure. Co-treatment with TBBPA and GW1929 inhibited the TBBPA-induced caspase-3 activity, apoptotic body formation, and LDH release as well as TBBPA-induced decrease in PPAR- γ protein expression. Thus, our data support neuroprotective potential of PPAR- γ agonists. The PPAR- γ antagonist GW9662 prevented the TBBPA-induced decrease in PPAR- γ protein level, but it potentiated TBBPA-induced apoptotic and neurotoxic effects, which suggest that the mechanism of TBBPA action in neuronal cells is not only PPAR- γ -dependent. Therefore, further studies of the mechanism of TBBPA action in the nervous system are needed.

Grasselli E, Cortese K, Fabbri R, Smerilli A, Vergani L, Voci A, et al. Thyromimetic actions of tetrabromobisphenol A (TBBPA) in steatotic FaO rat hepatoma cells. Chemosphere. 2014 ; 112 : 511-8.

Tetrabromobisphenol A (2,2-bis(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)propane-TBBPA) is the most produced brominated flame retardant, detected in the environment and in biological samples. TBBPA shares structural similarities with thyroid hormones (THs), and it has been shown to interfere with different aspects of TH physiology, this raising concern on its possible effects as an endocrine disruptor in humans and wildlife. THs play a major role in lipid metabolism, with the liver representing one of their main target tissues. At the cellular level, THs act through interactions with TH receptors (TRs), as well as through TR-independent mechanisms. Rat hepatoma FaO cells (a liver cell line defective for functional TRs) overloaded with lipids have been utilized as a model to investigate the anti-steatotic effects of THs in the hepatocyte. In this work, the possible effects of TBBPA in steatotic FaO cells were investigated. Exposure to TBBPA for 24 h reduced triglyceride (TAG) content and the size of lipid droplets (LDs); similar effects were obtained with equimolar doses (10⁻⁶ M) of T3 (3,3',5-L-triiodothyronine). TBBPA and T3 showed common effects on transcription of genes

involved in lipid homeostasis. In particular, TBBPA mainly up-regulated mRNA levels for LD-associated oxidative tissue-enriched PAT protein (OXPAT), peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) isoform β/δ , and the mitochondrial uncoupling protein 2 (UCP2). The results demonstrate that TBBPA can decrease lipid accumulation in steatotic cells through stimulation of oxidative pathways. These data identify novel thyromimetic actions of TBBPA at the cellular level.

Riu A, Grimaldi M, le Maire A, Bey G, Phillips K, Boulahtouf A, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma is a target for halogenated analogs of bisphenol A. Environmental health perspectives. 2011 ; 119(9) : 1227-32.

Background : the occurrence of halogenated analogs of the xenoestrogen bisphenol A (BPA) has been recently demonstrated both in environmental and human samples. These analogs include brominated [e.g., tetrabromobisphenol A (TBBPA)] and chlorinated [e.g., tetrachlorobisphenol A (TCBPA)] bisphenols, which are both flame retardants. Because of their structural homology with BPA, such chemicals are candidate endocrine disruptors. However, their possible target(s) within the nuclear hormone receptor superfamily has remained unknown.

Objectives : we investigated whether BPA and its halogenated analogs could be ligands of estrogen receptors (ERs) and peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) and act as endocrine-disrupting chemicals.

Methods : we studied the activity of compounds using reporter cell lines expressing ERs and PPARs. We measured the binding affinities to PPAR γ by competitive binding assays with [3 H]-rosiglitazone and investigated the impact of TBBPA and TCBPA on adipocyte differentiation using NIH3T3-L1 cells. Finally, we determined the binding mode of halogenated BPAs to PPAR γ by X-ray crystallography.

Results : we observed that TBBPA and TCBPA are human, zebrafish, and *Xenopus* PPAR γ ligands and determined the mechanism by which these chemicals bind to and activate PPAR γ . We also found evidence that activation of ER α , ER β , and PPAR γ depends on the degree of halogenation in BPA analogs. We observed that the bulkier brominated BPA analogs, the greater their capability to activate PPAR γ and the weaker their estrogenic potential.

Conclusions : our results strongly suggest that polyhalogenated bisphenols could function as obesogens by acting as agonists to disrupt physiological functions regulated by human or animal PPAR γ .

Shy C-, Hsu Y-, Shih S-, Chuang KP, Lin C-, Wu C-, et al. Indoor level of polybrominated diphenyl ethers in the home environment and assessment of human health risks. Aerosol Air Qual Res 2015 ; 15(4) : 1494-1505.

It has been demonstrated that human exposure to polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) might be associated with several adverse health effects. Dietary and microenvironmental sources are considered to be the main routes of PBDEs exposure. The study aimed to investigate PBDEs in residential indoor and outdoor air and further to assess the health risks in family members of different ages. Indoor and outdoor air samples from houses in residential areas were simultaneously collected for analysis of BDE-47, 99, 100, 153, 154, 183, 196, 197, 203, 206, 207, 208, and 209 by high-resolution gas chromatography/high-

resolution mass spectrometry. PBDE concentrations were non-significantly higher indoors (81.1 pg/m³) than outdoors (42.7 pg/m³) (p = 0.513). For the outdoor air, the mean PBDE level was lower in air outside houses than in air from industrial and urban areas. Levels of Σ 14PBDEs and BDE-209 in house indoor air were no higher in Taiwan than other countries. The daily intake of non-dietary PBDEs from house air and dust in Taiwan was highest in the toddlers (1–2 years old; 8.22 ng.kg⁻¹ b.w./day) and lowest in the male adults (\geq 20 years old; 0.562 ng.kg⁻¹ b.w./day) among family members. For Taiwanese, the risks of non-cancer (hazard quotient : HQ) and cancer (cancer risk : R) with neurobehavioral effects of exposure to non-dietary PBDEs in the home environment were assessed to be lower than the critical values of 1.00 and 1.00×10^{-6} for HQs and Rs, respectively. In conclusion, levels of indoor PBDEs and non-dietary daily intake were found to be low in home environments in Taiwan. This result suggests that PBDEs in the home environment are not harmful to family members from the newborn to the elderly if we only consider the neurobehavioral effects.

Ward MH, Colt JS, Deziel NC, Whitehead TP, Reynolds P, Gunier RB, et al. Residential levels of polybrominated diphenyl ethers and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia in California. *Environmental health perspectives*. 2014 ; 122(10) : 1110-6.

Background : house dust is a major source of exposure to polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), which are found at high levels in U.S. homes.

Methods : we studied 167 acute lymphoblastic leukemia (ALL) cases 0–7 years of age and 214 birth certificate controls matched on date of birth, sex, and race/ethnicity from the Northern California Childhood Leukemia Study. In 2001–2007, we sampled carpets in the room where the child spent the most time while awake; we used a high-volume small-surface sampler or we took dust from the home vacuum. We measured concentrations of 14 PBDE congeners including penta (28, 47, 99, 100, 153, 154), octa (183, 196, 197, 203), and deca-BDEs (206–209). Odds ratios (ORs) were calculated using logistic regression, adjusting for demographics, income, year of dust collection, and sampling method.

Results : BDE-47, BDE-99, and BDE-209 were found at the highest concentrations (medians, 1,173, 1,579, and 938 ng/g, respectively). Comparing the highest to lowest quartile, we found no association with ALL for summed penta-BDEs (OR = 0.7; 95% CI: 0.4, 1.3), octa-BDEs (OR = 1.3; 95% CI: 0.7, 2.3), or deca-BDEs (OR = 1.0; 95% CI: 0.6, 1.8). Comparing homes in the highest concentration (nanograms per gram) tertile to those with no detections, we observed significantly increased ALL risk for BDE-196 (OR = 2.1; 95% CI: 1.1, 3.8), BDE-203 (OR = 2.0; 95% CI: 1.1, 3.6), BDE-206 (OR = 2.1; 95% CI: 1.1, 3.9), and BDE-207 (OR = 2.0; 95% CI: 1.03, 3.8).

Conclusion : we found no association with all for common PBDEs, but we observed positive associations for specific octa and nona-BDEs. Additional studies with repeated sampling and biological measures would be informative.

Ni HG, Ding C, Lu SY, Yin XL, Samuel SO. Food as a main route of adult exposure to PBDEs in Shenzhen, China. *The Science of the total environment*. 2012 ; 437 : 10-4.

The present study measured eight PBDE congeners' (BDE-28, 47, 99, 100, 153, 154, 183, and 209) exposure via ingestion of indoor dust and soil, inhalation, and food consumption. Contributions to PBDEs exposure from different media revealed that indoor dust (dust suspended in air) was not an important exposure route for PBDE congeners for adults in Shenzhen, China. Food consumption contributed more to daily intake of σ 8BDE, especially

for lower-brominated PBDE congeners. Based on calculated average total daily intake, hazard quotients were determined to estimate the non-cancer risks of PBDE exposure. Meanwhile, cancer risk was also estimated assuming that the oral cancer slope factors of all PBDE congeners are equipotent as BDE-209. The hazard quotients ranged from 1.2×10^{-5} (BDE-209) to 2.0×10^{-2} (BDE-47), suggesting a low deleterious risk with regard to PBDEs. The cancer risk value ranged from 1.1×10^{-24} to 5.5×10^{-21} implying that the total risks due to exposure to PBDEs via all exposure routes are extremely low for adults.

Hurley S, Reynolds P, Goldberg D, Nelson DO, Jeffrey SS, Petreas M. Adipose levels of polybrominated diphenyl ethers and risk of breast cancer. Breast cancer research and treatment. 2011 ; 129(2) : 505-11.

We conducted a case-control study to evaluate the risk of breast cancer associated with adipose concentrations of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) among women undergoing surgical breast biopsies in the San Francisco Bay Area of California (n = 78 cases; 56 controls). Adipose tissue was analyzed for the five major congeners of PBDEs. Unconditional logistic regression was used to estimate age- and race-adjusted exposure-specific odds ratios (ORs) and 95% confidence intervals (95% CI). Adipose levels of PBDEs were among the highest ever reported. Adjusted ORs for the highest compared with lowest levels of exposures were as follows: 0.56 (95% CI 0.19-1.68) for BDE-47; 1.19 (95% CI 0.35-4.10) for BDE-99; 0.91 (95% CI 0.33-2.53) for BDE-100; 0.52 (95% CI 0.19-1.39) for BDE-153; 1.67 (95% CI 0.44-6.29) for BDE-154; 2.04 (95% CI 0.45-9.20) for total BDEs. These results provide no evidence of an association between PBDE adipose concentrations measured at or near the time of diagnosis and breast cancer risk. Our study was limited by a small sample size. Given the high levels of PBDEs found in this population of California women, future studies are warranted. Such studies would benefit from a larger sample size, a more representative control series, and/or a prospective design.

Qin et al. (2010) Persistent organic pollutants and heavy metals in adipose tissues of patients with uterine leiomyomas and the association of these pollutants with seafood diet, BMI, and age.

Background, aim, and scope : persistent organic pollutants and heavy metals can cause diseases in women, however, the relationships of these pollutants and uterine leiomyomas (UL), which are non-cancerous tumors of the uterus, are unclear. This study focused on the quantification of organochlorine pesticides (OCPs), polychlorinated biphenyls (PCBs), polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), and heavy metals in subcutaneous and visceral fat obtained from patients with UL and in subcutaneous fat of a control group of women without UL to determine if there were any correlations between concentrations of persistent organic pollutants (POPs) and heavy metals and the incidence of UL.

Materials and methods : samples were collected from ethnic Chinese residents from six hospitals and six cosmetic surgery clinics in Hong Kong. Patients with UL provided both subcutaneous and visceral fat, while women without UL (control group) provided subcutaneous fat through liposuction. Analyses of POPs and heavy metals were conducted using gas chromatography-mass spectrometry and inductively coupled plasma-optical emission spectrometry, respectively. Total mercury (Hg) content was measured using an atomic fluorescence spectrometer.

Results : significantly higher ($p < 0.01$ or 0.05) concentrations of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDTs), hexachlorocyclohexane (HCHs), PCBs, PAHs, PBDEs, arsenic (As), cadmium (Cd), lead (Pb), and Hg were detected in the subcutaneous fat of patients when compared with those of the control group. Significant correlations were found between pollutant concentrations of subcutaneous and visceral fat in the patient group, with visceral fat containing significantly higher ($p < 0.01$ or 0.05) concentrations of As (subcutaneous fat : $0.59 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ fat; visceral fat : 0.73), Cd (0.38; 0.47), Pb (5.24; 5.98), and Hg (9.12; 13.3).

Discussion : since UL has a close relationship with estrogen levels in women, and OCPs, PCBs, PAHs, and PBDEs have an estrogen-like effect, these chemicals may correlate with UL. This study showed higher levels of DDT and its metabolites, HCHs, fluoranthene, pyrene, benzo(a)pyrene, PCBs, and BDE-99 in patients with UL than those in the control group. Furthermore, higher concentrations of Cd, Pb, As, and Hg were found in the patient group than those in the control group suggesting that these chemicals may correlate with UL.

Conclusion : Our studies demonstrated that these persistent organic pollutants and some heavy metals may have correlations with UL, and their accumulation in the body is positively correlated with seafood diet habit, body mass index, and age. In the patient group, higher levels of persistent organic pollutants and some heavy metals were found in visceral fat than in subcutaneous fat confirming the long-held belief that visceral fat is more pernicious and pathogenic than subcutaneous fat.

Recommendations and perspectives : it is recommended that women minimize their exposure to environmental pollutants as much as possible which includes consuming certain seafoods in moderation, such as fatty fish, carnivorous fish (tuna and swordfish), and shellfish which are known to concentrate POPs and heavy metals, respectively.

Wang F, Ruan XJ, Zhang HY. BDE-99 (2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether) triggers epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer cells via PI3K/Akt/Snail signaling pathway. Tumori. 2015 ; 101(2) : 238-45.

Purpose : the gut is in direct contact with BDE-99 (2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether), one of the most abundant PBDE congeners in the environment and in human tissues. The objective of the present study was to investigate the effects of BDE-99 on colorectal cancer (CRC) cells.

Methods : the effects of BDE-99 on cell proliferation were measured by CCK-8 assay in the CRC cell line HCT-116. Wound healing and transwell migration/invasion assays were used to test the migration and invasion of CRC cells. Factors related to epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) were measured by real-time PCR and Western blot analysis for mRNA and protein levels, respectively.

Results : BDE-99 was found to increase migration and invasion and trigger EMT in HCT-116 cells; EMT was characterized by cells acquiring mesenchymal spindle-like morphology and by increased expression of N-cadherin with a concomitant decrease in E-cadherin. BDE-99 treatment also increased the protein and mRNA levels of the transcription factor Snail, but not Slug, Twist, and ZEB1. Knockdown of Snail by siRNA significantly attenuated BDE-99-induced EMT in HCT-116 cells, suggesting that Snail plays a crucial role in BDE-99-induced EMT. The PI3K/Akt inhibitor LY294002 completely blocked BDE-99-induced Snail and invasion of HCT-116 cells.

Conclusions : our results revealed that BDE-99 can trigger the EMT of colon cancer cells via the PI3K/AKT/Snail signaling pathway. This study provides new insight into the tumorigenesis and metastasis of CRC stimulated by BDE-99 and possibly other PBDE congeners.

Qu BL, Yu W, Huang YR, Cai BN, Du LH, Liu F. 6-OH-BDE-47 promotes human lung cancer cells epithelial mesenchymal transition via the AKT/Snail signal pathway. Environmental toxicology and pharmacology. 2015 ; 39(1) : 271-9.

Hydroxylated polybrominated diphenyl ethers (OH-PBDEs) have been detected in the various human tissues. The OH-PBDEs are suggested to be stronger endocrine-disrupting compounds than PBDEs, therefore the toxicological effects of OH-PBDEs had received lots of attention. However, there is no study about the carcinogenic effect of OH-PBDEs and their estrogen potencies on the tumorigenesis and development of cancer. In the present study, we found that 6-hydroxy-2,2',4',4'-tetrabromodiphenyl ether (6-OH-BDE-47), the most abundant OH-PBDE congeners in human serum, promoted the in vitro migration of lung cancer A549 and H358 cells by induction of epithelial to mesenchymal transition (EMT). This was confirmed by that 6-OH-BDE-47 significantly down regulated the expression of epithelial markers E-cadherin (E-Cad) and zona occludin-1 (ZO-1) while up regulated the mesenchymal markers vimentin (Vim) and N-cadherin (N-Cad). 6-OH-BDE-47 up regulated the protein while not mRNA levels of Snail, which was the key transcription factor of EMT. Silencing of Snail by use of siRNA attenuated the 6-OH-BDE-47 induced EMT. This suggested that the stabilization of Snail was essential for 6-OH-BDE-47 induced EMT. Further, the treatment of 6-OH-BDE-47 increased the phosphorylation of AKT and ERK in A549 cells. Only PI3K/AKT inhibitor (LY294002), but not ERK inhibitor (PD98059), completely blocked the 6-OH-BDE-47 induced up regulation of Snail and down regulation of E-Cad, suggesting that PI3K/AKT pathway is important for 6-OH-BDE-47-mediated Snail stabilization and EMT in A549 cells. Generally, our results revealed for the first time that 6-OH-BDE-47 promoted the EMT of lung cancer cells via AKT/Snail signals. This suggested that more attention should be paid to the effects of OH-PBDEs on tumorigenesis and development of lung cancer.

An J, Wang X, Guo P, Zhong Y, Zhang X, Yu Z. Hexabromocyclododecane and polychlorinated biphenyls increase resistance of hepatocellular carcinoma cells to cisplatin through the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B pathway. Toxicology letters. 2014 ; 229(1) : 265-72.

Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most common cancers in China with high mortality, high chemotherapy resistance incidence, and poor prognosis. This study aimed to investigate the influence of polychlorinated biphenyls (PCBs) and hexabromocyclododecane (HBCDD) on chemoresistance of HCC cells (HepG2, MHCC97H, and MHCC97L) to cisplatin and to explore the potential molecular mechanism. Cell viability, DNA damage, the expression level and activity of nuclear factor- κ B (NF- κ B), p53/Mdm4, and phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B (PI3K/AKT) pathway were measured. The results showed that HBCDD and PCBs could significantly reduce the chemosensitivity of HCC cells to cisplatin, increasing the cell viability and decreasing DNA damage. Moreover, HBCDD and PCBs could induce the transcriptional activity of NF- κ B and suppress the p53

expression in HepG2 and MHCC97H cells. In MHCC97L cells, however, opposite changes for NF- κ B protein expression, NF- κ B transcriptional activity, and p53/Mdm4 expression were observed after HBCDD and PCBs exposure. Further investigation revealed that HBCDD and PCBs exposure significantly increased the expression level of p-Akt and mammalian target of rapamycin (mTOR) in HepG2 and MHCC97H cells, but reduced that in MHCC97L cells. PI3K inhibitor LY294002 could relieve the influence of HBCDD and PCBs on chemoresistance in HepG2 and MHCC97H cells. Taken together, HBCDD and PCBs at low concentrations could increase the resistance of HCC cells to cisplatin through modulation on NF- κ B pathway activation and p53 function, which is associated with the activity of PI3K/Akt pathway.

Li M, Liu Z, Gu L, Yin R, Li H, Zhang X, et al. Toxic effects of decabromodiphenyl ether (BDE-209) on human embryonic kidney cells. *Frontiers in genetics*. 2014 ; 5 : 118.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are widely used as flame-retardant additives in consumer and household products and can escape into the environment over time. PBDEs have become a global environmental organic pollutant due to the properties of persistence, toxicity, and bioaccumulation. The well-studied toxic effects of PBDEs mainly include thyroid hormone disruption and neurotoxicity. There is no consistent conclusions on the carcinogenic potential of PBDEs to date. Here, we explored the toxic effects of BDE-209 on human embryonic kidney cells (HEK293T). The comparison of the gene expression profiles of HEK293T cells with BDE-209 treatment and the negative control found that BDE-209 exposure may alter nucleosome organization through significantly changing the expression of histone gene clusters. The remodeled chromatin structure could further disturb systemic lupus erythematosus as one of the toxic effects of BDE-209. Additionally, gene sets of different cancer modules are positively correlated with BDE-209 exposure. This suggests that BDE-209 has carcinogenic potential for a variety of tumors. Collectively, BDE-209 has a broader toxicity not limited to disruption of thyroid hormone-related biological processes. Notably, the toxic effects of BDE-209 dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO) is not the simply additive effects of BDE-209 and DMSO alone.

Cui Y-, Zhan P, Luo D, Xia Y-. Molecular mechanisms underlying pentabrominated diphenyl ether-induced proliferation in breast cancer MCF-7 cells. *Toxicol Environ Chem* 2010 ; 92(6) : 1177-1185.

The effects of pentabrominated diphenyl ethers (BDE-99) were examined on mRNA and protein expressions of c-Myc and p53 in breast cancer MCF-7 cells. Human breast cancer MCF-7 cells were cultured in Dulbecco's modified Eagle's medium. 3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) assay was employed to investigate cell proliferation. Real time-polymerase chain reaction (RT-PCR) and immunohistochemistry were performed to detect mRNA and protein expressions of c-Myc and p53. At the concentration of $1 \times (10^{-4}-10^{-8}) \text{ mol L}^{-1}$, BDE-99 stimulated proliferation of MCF-7 cells in a concentration- and time-dependent manner. RT-PCR and immunohistochemistry analyses revealed that treatment with $1 \times (10^{-4}-10^{-7}) \text{ mol L}^{-1}$ for 72 h resulted in significantly increased mRNA and protein expressions of c-Myc and inhibited p53. It is possible that BDE-99 exerted estrogenic actions and might markedly stimulate proliferation in estrogen responsive breast cancer MCF-7 cells. BDE-99 similar to estrogen promoted c-Myc mRNA and protein, and inhibited p53 mRNA and protein expression in MCF-7 cell.

Harvey JB, Osborne TS, Hong HH, Bhusari S, Ton TV, Pandiri AR, et al. Uterine Carcinomas in Tetrabromobisphenol A-exposed Wistar Han Rats Harbor Increased Tp53 Mutations and Mimic High-grade Type I Endometrial Carcinomas in Women. Toxicologic pathology. 2015 ; 43(8) : 1103-13.

Endometrial carcinoma is the most common gynecologic malignancy in the United States and accounts for 6% of all cancers in women. The disease is classified as type I or type II based on clinicopathologic and molecular features. It is a multifactorial disease with a number of risk factors, including environmental exposures. How environmental exposures, such as flame retardants, may affect the incidence of endometrial cancer is a topic of current and ongoing interest. Tetrabromobisphenol A (TBBPA) is a widely used brominated flame retardant found in a variety of household products. A recent 2-year National Toxicology Program carcinogenicity study found that exposure to TBBPA was associated with a marked increase in the development of uterine tumors, specifically uterine carcinomas, in Wistar Han rats. Molecularly, TBBPA-induced uterine carcinomas in Wistar Han rats were characterized by a marked increase in tumor protein 53 mutation compared to spontaneous uterine carcinomas, as well as overexpression of human epidermal growth factor receptor 2. Similar to spontaneous carcinomas, tumors in TBBPA-exposed rats were estrogen receptor-alpha positive and progesterone receptor negative by immunohistochemistry. The morphologic and molecular features of uterine carcinomas in TBBPA-exposed rats resemble those of high-grade type I tumors in women, and these data suggest that exposure to TBBPA may pose an increased cancer risk.

Dankers AC, Roelofs MJ, Piersma AH, Sweep FC, Russel FG, van den Berg M, et al. Endocrine disruptors differentially target ATP-binding cassette transporters in the blood-testis barrier and affect Leydig cell testosterone secretion in vitro. Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology. 2013 ; 136(2) : 382-91.

Endocrine-disrupting chemicals (EDCs) are considered to cause testicular toxicity primarily via interference with steroid hormone function. Alternatively, EDCs could possibly exert their effects by interaction with ATP-binding cassette (ABC) transporters that are expressed in the blood-testis barrier. In this study, we investigated the effects of bisphenol A (BPA), tetrabromobisphenol A (TBBPA), bis(2-ethylhexyl) phthalate, mono(2-ethylhexyl) phthalate, perfluorooctanoic acid (PFOA), and perfluorooctanesulfonic acid (PFOS) on breast cancer resistance protein (BCRP), multidrug resistance proteins 1 and 4 (MRP1 and MRP4), and P-glycoprotein (P-gp) using membrane vesicles overexpressing these transporters. BPA solely inhibited BCRP activity, whereas TBBPA, PFOA, and PFOS inhibited all transporters tested. No effect was observed for the phthalates. Using transporter-overexpressing Madin-Darby canine kidney cells, we show that BPA and PFOA, but not TBBPA, are transported by BCRP, whereas none of the compounds were transported by P-gp. To investigate the toxicological implications of these findings, testosterone secretion and expression of steroidogenic genes were determined in murine Leydig (MA-10) cells upon exposure to the selected EDCs. Only BPA and TBBPA concentration-dependently increased testosterone secretion by MA-10 cells to 6- and 46-fold of control levels, respectively. Inhibition of the Mrp's by MK-571 completely blocked testosterone secretion elicited by TBBPA, which could not be explained by coinciding changes in expression of steroidogenic genes. Therefore, we hypothesize that transporter-mediated efflux of testosterone precursors out of MA-10 cells is inhibited by

TBBPA resulting in higher availability for testosterone production. Our data show the toxicological and clinical relevance of ABC transporters in EDC risk assessment related to testicular toxicity.

Park MA, Hwang KA, Lee HR, Yi BR, Jeung EB, Choi KC. Cell growth of BG-1 ovarian cancer cells is promoted by di-n-butyl phthalate and hexabromocyclododecane via upregulation of the cyclin D and cyclin-dependent kinase-4 genes. *Molecular medicine reports*. 2012 ; 5(3) : 761-6.

Endocrine-disrupting chemicals (EDCs) are environmentally persistent exogenous compounds released from various industrial products such as plastics, pesticides, drugs, detergents and cosmetics. They can cause a variety of adverse effects to the reproductive, developmental, immune and nervous systems in humans and wildlife. Di-n-butyl phthalate (DBP) is the main compound of phthalates and is reported to inhibit estrogen receptor (ER)-mediated gene expression and to interfere with normal fetal development of the male reproductive system. Hexabromocyclododecane (HBCDD or HBCDD) is one of the brominated flame retardants (BFRs) which have been widely used in plastic, electronic and textile applications and are known to cause endocrine disruption with toxicity of the nervous system. In the present study, the estrogenic effects of DBP and HBCDD were examined in an ovarian cancer cell line, BG-1, expressing high levels of ER via MTT assay and semi-quantitative reverse-transcription PCR. Treatment with DBP (10^{-8} - 10^{-5} M) or HBCDD (2×10^{-8} ; 2×10^{-6} M) resulted in increased cell proliferation of BG-1 cells as observed with 17- β estradiol (E2). In addition, both DBP and HBCDD upregulated the expression levels of cell cycle-regulatory genes, such as cyclin D and cyclin-dependent kinase-4 (cdk-4), which are downstream target genes of ER, at 6 h after treatment. However, the expression of the p21 gene was not altered by DBP or HBCDD at any time as with E2. Taken together, these results suggest that DBP and HBCDD are EDCs which have apparent estrogenic activities by stimulating the cell proliferation of BG-1 cells and by inducing the expression of cyclin D and cdk-4. Our results suggest that DBP and HBCDD have sufficient potency to disrupt the endocrine system and to stimulate cell growth in ER-positive cancer cells.

Feng Y, Hu Q, Meng G, Wu X, Zeng W, Zhang X, et al. Simulating long-term occupational exposure to decabrominated diphenyl ether using C57BL/6 mice : biodistribution and pathology. *Chemosphere*. 2015 ; 128 : 118-24.

Decabrominated biphenyl ether (BDE-209) is a fully brominated diphenyl ether compound used widely as an additive brominated flame retardant in a variety of consumer products. In recent years, BDE-209 has been reported to be abundant and persistent in the environment, and comparatively high burdens have been found in occupational environmental compartments and exposed individuals. In the present study, an animal model for simulating long-term occupational exposure to BDE-209 was set up. Female C57BL/6 mice (n = 10) were intragastrically administered BDE-209 at a dose of 800 mg.kg⁻¹ bw at 2-d intervals for 2 years with an internal blood level of approximately 200 ng mL⁻¹, which was comparable to the high level of BDE-209 detected in the occupational population, and the biodistribution and biological effects were evaluated systematically. The results showed that large amounts of the chemical accumulated in most tissues, and the preferential organs were the ovary and uterus, liver and lung. Decreased survival was observed in the exposed mice. The subsequent pathological analysis revealed hepatomegaly in the exposed mice, accompanied

by obvious histopathological changes in the liver, lung, brain, spleen, kidney and ovary. No neoplastic lesions were observed in this lifetime exposure study. Although the number of experimental mice was limited, our observations offer a comprehensive understanding of the chronic toxicology of BDE-209 after continuous high-dose exposure.

Zeng W, Wang Y, Liu Z, Khanniche A, Hu Q, Feng Y, et al. Long-term exposure to decabrominated diphenyl ether impairs CD8 T-cell function in adult mice. Cellular & molecular immunology. 2014 ; 11(4) : 367-76.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are ubiquitous environmental pollutants that accumulate to high levels in human populations that are subject to occupational or regional industry exposure. PBDEs have been shown to affect human neuronal, endocrine and reproductive systems, but their effect on the immune system is not well understood. In this study, experimental adult mice were intragastrically administered 2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-decabromodiphenyl ether (BDE-209) at doses of 8, 80 or 800 mg.kg⁻¹ of body weight (bw) at 2-day intervals. Our results showed that continuous exposure to BDE-209 resulted in high levels of BDE-209 in the plasma that approached the levels found in people who work in professions with high risks of PBDE exposure. Reduced leukocytes, decreased cytokine (IFN- γ , IL-2 and TNF- α) production and lower CD8 T-cell proliferation were observed in the mice exposed to BDE-209. Additionally, mice with long-term BDE-209 exposure had lower numbers of antigen-specific CD8 T cells after immunization with recombinant *Listeria monocytogenes* expressing ovalbumin (rLm-OVA) and the OVA-specific CD8 T cells had reduced functionality. Taken together, our study demonstrates that continuous BDE-209 exposure causes adverse effects on the number and functionality of immune cells in adult mice.

Fair PA, Stavros HC, Mollenhauer MA, DeWitt JC, Henry N, Kannan K, et al. Immune function in female B(6)C(3)F(1) mice is modulated by DE-71, a commercial polybrominated diphenyl ether mixture. Journal of immunotoxicology. 2012 ; 9(1) : 96-107.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are an important class of flame-retardants that are environmentally persistent and bioaccumulative. Toxicity of these compounds has become a concern because detectable levels of PBDEs are present in humans and wildlife and they are structurally similar to polychlorinated biphenyls (PCBs). This study examined the effects of the commercial penta-BDE mixture, DE-71, in adult female B(6)C(3)F(1) mice on hematology, serum clinical chemistry, thyroid hormones, tissue histology, and several immunotoxicity end-points (lymphocyte proliferation, NK cell activity, splenic immunophenotypes, and SRBC-specific-IgM production). Mice were exposed via oral gavage for 28 days to achieve total administered doses (TAD) of 0, 0.5, 5, 50, or 100 mg.kg⁻¹. No changes in histology, clinical chemistry, body or organ weights were observed. Serum total T3 and T4 levels were not altered by any of the DE-71 treatments. Peripheral blood monocyte numbers were decreased by the 0.5, 5, and 50 mg.kg⁻¹ treatments, but not by the 100 mg.kg⁻¹ TAD concentration. Compared to controls, mitogen-stimulated T- and B-cell proliferation was increased by the 100 mg.kg⁻¹ TAD concentration (ED(50) = 60 mg.kg⁻¹ TAD [2.14 mg/kg/day] and 58 mg.kg⁻¹ TAD [2.57 mg/kg/day], respectively). NK cell activity was decreased compared to controls by the 100 mg.kg⁻¹ TAD concentration (ED(50) = 20 mg.kg⁻¹

TAD [0.7 mg/kg/day]). No alterations were noted in thymic T-cell populations or in SRBC-specific-IgM production. Numbers of CD19 (+) CD21 (-), CD19 (+) CD21 (+), CD4 (+) CD8 (-), CD4 (-) CD8 (+), CD4 (-) CD8 (-), and MHC-II (+) cells in the spleen were not affected. However, the numbers of splenic CD4 (+) CD8 (+) cells were decreased compared to the controls by 0,5 ; 5 and 100 mg.kg⁻¹ TAD. This study provides an assessment of the systemic toxicity and immunotoxicity of DE-71, and indicates that immune parameters are modulated at exposure concentrations lower than previously reported.

Hachisuka A, Nakamura R, Sato Y, Nakamura R, Shibutani M, Teshima R. [Effects of perinatal exposure to the brominated flame-retardant hexabromocyclododecane (HBCDD) on the developing immune system in rats]. Kokuritsu Iyakuin Shokuhin Eisei Kenkyujo hokoku = Bulletin of National Institute of Health Sciences. 2010(128) : 58-64.

To evaluate the developmental immunotoxicity of brominated flame retardant, hexabromocyclododecane (HBCDD), maternal Sprague-Dawley rats were given HBCDD at dietary concentrations of 0, 100, 1000, 10000 ppm from gestational day 10 to postnatal day 21 (postnatal week 3, PNW3). At PNW3 and PNW11, lymphocytes in the spleen, thymus, and peripheral blood of male pups were subjected to flow cytometric analyses for expression of surface markers [CD3, CD4, CD8a, CD25, CD45RA, CD71, and CD161 (NKR1A)]. The spleen and thymus weights, and number of white blood cells of two organs did not change between HBCDD-exposed and control groups at PNW3 and PNW11. A significant decrease in thyroid hormone T3 and increase in serum albumin concentration were observed at PNW3 and lasted until PNW11. By flow cytometric analysis, the dramatic change was not observed in the population of the splenic and thymic T/B lymphocyte between the HBCDD treated groups and control group. In the peripheral blood of PNW3 rats, the population of activated T cells was decreased and that of inactivated B cells was increased. And the population of NK cells in the spleen was decreased. All of these changes were mild in degree, and returned to the normal levels by PNW11. Production of anti-KLH IgG antibody after KLH immunization was reduced by the 10000 ppm HBCDD treatment. These results suggest that developmental exposure to the highest dose of HBCDD had a weak immunomodulatory effect at PNW3, and most of the immunomodulatory effect had recovered to normal levels by PNW11.

Almughamsi H, Whalen MM. Hexabromocyclododecane and tetrabromobisphenol A alter secretion of interferon gamma (IFN-gamma) from human immune cells. Archives of toxicology. 2016 ; 90(7) : 1695-707.

Hexabromocyclododecane (HBCDD) and tetrabromobisphenol A (TBBPA) are brominated flame-retardant compounds used in a variety of applications including insulation, upholstery, and epoxy resin circuit boards. Interferon gamma (IFN- γ) is an inflammatory cytokine produced by activated T and NK cells that regulates immune responsiveness. HBCDD and TBBPA are found in human blood, and previous studies have shown that they alter the ability of human natural killer (NK) lymphocytes to destroy tumor cells. This study examines whether HBCDD and TBBPA affect the secretion of IFN- γ from increasingly complex preparations of human immune cells-purified NK cells, monocyte-depleted (MD) peripheral blood mononuclear cells (PBMCs), and PBMCs. Both HBCDD and TBBPA were tested at

concentrations ranging from 0.05 to 5 µM. HBCDD generally caused increases in IFN-γ secretion after 24-h, 48-h, and 6-day exposures in each of the different cell preparations. The specific concentration of HBCDD that caused increases as well as the magnitude of the increase varied from donor to donor. In contrast, TBBPA tended to decrease secretion of IFN-γ from NK cells, MD-PBMCs, and PBMCs. Thus, exposure to these compounds may potentially disrupt the immune regulation mediated by IFN-γ. Signaling pathways that have the capacity to regulate IFN-γ production (nuclear factor kappa B (NF-κB), p44/42, p38, JNK) were examined for their role in the HBCDD-induced increases in IFN-γ. Results showed that the p44/42 (ERK1/2) MAPK pathway appears to be important in HBCDD-induced increases in IFN-γ secretion from human immune cells.

Anisuzzaman,S., Whalen, M.M. Tetrabromobisphenol A and hexabromocyclododecane alter secretion of IL-1β from human immune cells (2015) Journal of Immunotoxicology.

Tetrabromobisphenol A (TBBPA) and hexabromocyclododecane (HBCDD), flame retardant compounds used in epoxy resin circuit boards and upholstery, contaminate the environment and are found in human serum. Lymphocytes and monocytes are immune cells that, among other functions, secrete pro-inflammatory cytokines such as interleukin (IL)-1β, an important regulator of immune responsiveness and tissue growth and repair. Thus, if its levels are dysregulated, loss of proper immune function and increased invasiveness of tumors could ensue. This study examines whether exposures to varying concentrations (0.05–5.0 µM) of TBBPA and HBCDD for 24 h, 48 h and 6 days interfere with the ability of immune cells to secrete IL-1β. The immune cell preparations examined were human natural killer (NK) cells, monocyte-depleted (MD) peripheral blood mononuclear cells (MD-PBMC) and PBMC. Both increased and decreased secretion of IL-1β from all three types of cell preparation were seen with TBBPA exposures and were dependent on concentration and length of exposure. TBBPA induced changes varied considerably from donor to donor. Exposure to HBCDD from 0.5–5.0 µM caused increases in IL-1β secretion after all lengths of exposures in all cell preparations. The specific HBCDD levels at which increases occurred varied among donors. Examinations of the signaling pathway(s) responsible for the elevated secretion of IL-1β after HBCDD exposure were carried out in MD-PBMC cells. Results revealed that MAPK pathways (ERK1/2 and p38) appear to be the targets of HBCDD that lead to increased IL-1β secretion from immune cells.

Cato A, Celada L, Kibakaya EC, Simmons N, Whalen MM. Brominated flame retardants, tetrabromobisphenol A and hexabromocyclododecane, activate mitogen-activated protein kinases (MAPKs) in human natural killer cells. Cell biology and toxicology. 2014 ; 30(6) : 345-60.

Natural killer (NK) cells provide a vital surveillance against virally infected cells, tumor cells, and antibody-coated cells through the release of cytolytic mediators and gamma interferon (IFN-γ). Hexabromocyclododecane (HBCDD) is a brominated flame retardant used primarily in expanded (EPS) and extruded (XPS) polystyrene foams for thermal insulation in the building and construction industry. Tetrabromobisphenol A (TBBPA) is used both as a reactive and an additive flame retardant in a variety of materials. HBCDD and TBBPA contaminate the environment and are found in human blood samples. In previous studies, we have shown that other environmental contaminants, such as the dibutyltin (DBT) and tributyltin (TBT), decrease NK lytic function by activating mitogen-activated protein kinases

(MAPKs) in the NK cells. HBCDD and TBBPA also interfere with NK cell(s) lytic function. The current study evaluates whether HBCDD and/or TBBPA have the capacity to activate MAPKs and MAPK kinases (MAP2Ks). The effects of concentrations of HBCDD and TBBPA that inhibited lytic function on the phosphorylation state and total levels of the MAPKs (p44/42, p38, and JNK) and the phosphorylation and total levels of the MAP2Ks (MEK1/2 and MKK3/6) were examined. Results indicate that exposure of human NK cells to 10-0.5 µM HBCDD or TBBPA activate MAPKs and MAP2Ks. This HBCDD and TBBPA-induced activation of MAPKs may leave them unavailable for activation by virally infected or tumor target cells and thus contributes to the observed decreases in lytic function seen in NK cells exposed to HBCDD and TBBPA.

Koike E, Yanagisawa R, Takigami H, Takano H. Penta- and octa-bromodiphenyl ethers promote proinflammatory protein expression in human bronchial epithelial cells in vitro. Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA. 2014 ; 28(2) : 327-33.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are widely used as flame retardants in consumer products. Humans can be exposed to PBDEs mainly through the inhalation of air or dust. Thus, PBDEs can affect respiratory and immune systems. In the present study, we investigated whether PBDEs stimulate bronchial epithelial cells. We examined commercial penta-BDE (DE-71), octa-BDE (DE-79), and deca-BDE (DE-83R). Human bronchial epithelial cells (BEAS-2B) were exposed to each PBDE for 24h. Subsequently, the expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and proinflammatory cytokines were investigated. DE-71 and DE-79, but not DE-83R, significantly increased the expression of ICAM-1, interleukin-6 (IL-6), and IL-8 in BEAS-2B. Because these remarkable effects were observed with DE-71, we further investigated the underlying intracellular mechanisms. DE-71 promoted epidermal growth factor receptor (EGFR) phosphorylation. Inhibitors of EGFR-selective tyrosine kinase and p38 mitogen-activated protein kinase effectively blocked the increase of IL-6 and IL-8. Furthermore, antagonists of thyroid hormone receptor and aryl hydrocarbon receptor significantly suppressed the increase in IL-6 and/or IL-8 production. In conclusion, penta- and octa-BDE, but not deca-BDE, might promote the expression of proinflammatory proteins in bronchial epithelial cells possibly by activating protein kinases and/or stimulating nuclear receptors related to subsequent activation of transcriptional factors.

Koike E, Yanagisawa R, Takigami H, Takano H. Brominated flame retardants stimulate mouse immune cells in vitro. Journal of applied toxicology : JAT. 2013 ; 33(12) : 1451-9.

Brominated flame retardants (BFRs) are widely used in consumer products. Their toxicological effects as endocrine disruptors have been partly examined. However, their immunological effects have not been elucidated. To evaluate the effects of BFRs on immune responses, we investigated whether BFRs affect phenotypes and the function of immune cells in vitro. Here we examined the commercial pentabromodiphenyl ether mixture (DE-71), octabromodiphenyl ether mixture (DE-79), decabromodiphenyl ether mixture (DE-83R), hexabromocyclododecane (HBCDD) and tetrabromobisphenol A (TBBPA). Splenocytes and bone marrow (BM) cells were prepared from atopic prone NC/Nga mice. Splenocytes were exposed to each BFR for 24 h. BM cells were cultured with granulocyte macrophage-colony

stimulating factor (GM-CSF) for 8 days and BM-derived dendritic cells (BMDCs) were exposed to each BFR for 24 h. In another experiment, BM cells were cultured with GM-CSF in the presence of each BFR for 6 days during BMDC differentiation. After exposure, cell surface molecule expression and cytokine production were investigated. Each BFR increased MHC class II and CD86 expression and interleukin (IL)-4 production in splenocytes. DE-71, HBCDD and TBBPA increased T cell receptor (TCR) expression in splenocytes. In both experiments, all BFRs except TBBPA increased DEC205 expression in BMDCs. BMDCs that differentiated in the presence of HBCDD showed enhanced MHC class II, CD80, CD86 and CD11c expression. The results demonstrate that some BFRs may stimulate immune cells. BFRs can induce or enhance immune/allergic responses by increasing antigen presentation-related molecule expression and IL-4 production.

Wang L, Zou W, Zhong Y, An J, Zhang X, Wu M, et al. The hormesis effect of BDE-47 in HepG2 cells and the potential molecular mechanism. Toxicology letters. 2012 ; 209(2) : 193-201.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) had been used extensively in electrical and electronic products as brominated flame retardants. PBDEs are widely distributed in environment media and wildlife since they are lipophilic and persistent, resulting in bioaccumulation and bioamplification through food chains. Accumulation of PBDEs in the environment and human tissues will consequently cause potential negative effects on the ecological environment and human health. To date, some in vitro and in vivo studies have reported that PBDEs possess neurotoxicity, hepatotoxicity, immunotoxicity, reproduction toxicity, endocrine disrupting activity and carcinogenicity. BDE-47 is one of the most predominant PBDE congeners detected in human tissues. The objective of this study is to investigate whether low concentration of BDE-47 could cause hormesis effect in the human hepatoma HepG₂ cells, and to explore the possible molecular mechanism. The results showed that low concentration of BDE-47 (10^{-10} , 10^{-9} and 10^{-8} M) could promote cell proliferation and cause no obvious change in DNA damage or cell apoptosis, while the high concentration significantly inhibit cell proliferation. Meanwhile, the reactive oxygen species (ROS) in low concentration BDE-47 (10^{-10} , 10^{-9} and 10^{-8} M) treated groups significantly elevated compared with the control group. After low concentration BDE-47 treatment, the expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA), Cyclin D1, DNA-dependent protein kinase catalytic subunit (DNA-PKcs) and phosphorylated protein kinase B (p-Akt) in the HepG₂ cells was markedly up-regulated. However, in DNA-PKcs inhibited cells, the promotion effect on cell proliferation was significantly suppressed. Cell cycle analysis showed a significant decrease in G1 phase after exposure to low concentration of BDE-47. Moreover, pre-exposure to low concentration BDE-47 seemed alleviate the negative effects of high concentration (50µM) exposure to cause DNA damage and apoptosis. These results suggested that BDE-47 has a hormesis effect in HepG₂ cells and DNA-PKcs/Akt pathway may be involved in regulation of cell proliferation and apoptosis.

Hurd T, Whalen MM. Tetrabromobisphenol A decreases cell-surface proteins involved in human natural killer (NK) cell-dependent target cell lysis. Journal of immunotoxicology. 2011 ; 8(3) : 219-27.

Human natural killer (NK) lymphocytes are able to destroy tumor cells and virally-infected cells. Interference with their function can leave an individual with increased susceptibility to

cancer development and/or viral infection. We have shown that the tumor-destroying (lytic) function of NK cells can be dramatically decreased by exposure to the environmental contaminant tetrabromobisphenol A (TBBPA). TBBPA is a flame retardant used in a variety of materials including circuit boards, carpeting, and upholstery and has been found in human blood samples. TBBPA interferes with NK cell lytic function, in part, by decreasing the ability of NK cells to bind to target cells. This study examines the effects of exposures to concentrations of TBBPA (i.e., that were able to decrease the binding capacity of NK cells) on the expression of cell-surface proteins (CD2, CD11a, CD16, CD18, and CD56) that are needed for NK cells to bind target cells. NK cells were exposed to TBBPA for 24 h, 48 h, and 6 days or for 1 h followed by 24 h, 48 h, and 6 days in TBBPA-free media. Twenty-four-hour exposures to 5 μ M TBBPA caused decreases in four of the cell-surface proteins examined. CD16 was decreased by > 35%. The decreases in cell-surface proteins after a 48-h exposure were similar to those seen after 24 h. The results indicate that TBBPA exposures that decrease the binding function of human NK cells do so by decreasing the expression of cell-surface proteins needed for attachment of NK cells to targets cells.

Hinkson NC, Whalen MM. Hexabromocyclododecane decreases tumor-cell-binding capacity and cell-surface protein expression of human natural killer cells. Journal of applied toxicology : JAT. 2010 ; 30(4) : 302-9.

Hexabromocyclododecane (HBCDD) is a flame retardant that decreases the lytic function of human natural killer (NK) cells. NK cells defend against tumor cells and virally infected cells. Thus, HBCDD has the potential to increase cancer incidence and viral infections. NK cells must bind to their targets for lysis to occur. Thus, concentrations of HBCDD that decrease lytic function were examined for their ability to alter NK binding to tumor targets. Levels of HBCDD that caused a loss of binding function were examined for effects on expression of cell surface proteins needed for binding. NK cells exposed to HBCDD for 24 h, 48 h or 6 days or to HBCDD for 1 h followed by 24 h, 48 h or 6 days in HBCDD-free media were examined for binding function and cell surface protein expression. The results indicated that exposure of NK cells to 10 μ M HBCDD for 24 h (which caused a greater than 90% loss of lytic function) caused a very significant decrease in NK cell binding function (70.9%), and in CD16 and CD56 cell-surface protein expression (57.8 and 24.6% respectively). NK cells exposed to 10 μ M HBCDD for 1 h followed by 24 h in HBCDD-free media (which caused a 89.3% loss of lytic function) showed decreased binding function (79.2%), and CD 16 expression (48.1%). Results indicate that HBCDD exposures decreased binding function as well as cell-surface marker expression in NK cells and that these changes may explain the losses of lytic function induced by certain HBCDD exposures.

Cowell WJ, Lederman SA, Sjodin A, Jones R, Wang S, Perera FP, et al. Prenatal exposure to polybrominated diphenyl ethers and child attention problems at 3-7 years. Neurotoxicology and teratology. 2015 ; 52(Pt B) : 143-50.

Introduction : polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) comprise a class of halogenated compounds used extensively as flame retardant chemicals in consumer products resulting in nearly ubiquitous human exposure. Mounting evidence suggests that PBDEs are developmental neurotoxicants; however, associations between early life exposure and child behavior have been largely limited to a single developmental time point.

Methods : the study population consists primarily of white, black and Chinese women who were pregnant on 11 September 2001 and delivered at 1 of 3 downtown New York City hospitals. Maternal-child pairs were followed through age 7 years. Cord blood was collected at delivery and PBDE plasma levels for 210 samples were analyzed by the U.S. Centers for Disease Control and Prevention. The Child Behavior Checklist, a validated maternal-report instrument used for assessing child behavior, was administered annually between the ages of 3 and 7 years. We analyzed the association between natural log-transformed and dichotomized (low vs. high) PBDEs and attention problems using multivariable adjusted negative binomial regression.

Results : we detected 4 PBDE congeners in more than 50% of samples, with concentrations highest for BDE-47 (median \pm IQR : 11.2 \pm 19.6 ng/g). In adjusted analyses, we detected associations between BDE-47 (1.21, 95% CI : 1.00, 1.47), and BDE-153 (1.18, 95% CI: 1.00, 1.39) in cord plasma and increased attention problems among children at age 4 (n = 109) but not 6 (n = 107) years.

Conclusions : our findings demonstrate a positive trend between prenatal PBDE exposure and early childhood attention problems, and are consistent with previous research reporting associations between prenatal PBDE exposure and disrupted child behaviors.

Ding G, Yu J, Cui C, Chen L, Gao Y, Wang C, et al. Association between prenatal exposure to polybrominated diphenyl ethers and young children's neurodevelopment in China. Environmental research. 2015 ; 142 : 104-11.

The use of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) has been dramatically increasing over the last two decades in China. Animal studies suggest that prenatal exposure to PBDEs may result in neurodevelopmental deficits. Two hundred thirty-two participating mothers were recruited from a prospective birth cohort in rural northern China between September 2010 and February 2012. We analyzed 232 cord blood specimens for selected PBDE congeners and examined their association with children's developmental quotients (DQs) at 12 (n = 192) and 24 (n = 149) months of age based on the Gesell Developmental Schedules (motor, adaptive, language, and social domains). There were no substantial differences by demographic characteristics among the three time points : baseline, 12 and 24 months of age. Median cord blood levels of PBDE congeners 47, 99, 100, and 153 were 3.71, 6.70, 2.63, and 2.19 ng/g lipid, respectively. At 12 months of age, neither the individual nor total (the sum of BDEs 47, 99, 100, and 153) congener levels were associated with any of the four domain DQs. However, at 24 months of age, a 10-fold increase in BDE-99 levels was associated with a 2.16-point decrease [95% confidence interval (CI) : -4.52, -0.20] in language domain DQs and a 10-fold increase in BDE-47 levels was associated with a 1.89-point decrease (95% CI : -3.75, -0.03) in social domain DQs. Prenatal exposure to PBDEs was associated with lower DQs in young children. The results contribute to the growing evidence that PBDEs could act as developmental neurotoxicants, and the findings have implications for children's environmental health in China.

Donauer S, Chen A, Xu Y, Calafat AM, Sjodin A, Yolton K. Prenatal exposure to polybrominated diphenyl ethers and polyfluoroalkyl chemicals and infant neurobehavior. The Journal of pediatrics. 2015 ; 166(3) : 736-42.

Objective : to assess the impact of prenatal exposure to polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polyfluoroalkyl chemicals (PFCs) on early infant neurobehavior.

Study design : in a cohort of 349 mother/infant pairs, we measured maternal serum concentrations during pregnancy of PBDEs, including BDE-47 and other related congeners, as well as 2 common PFCs, perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonic acid. When the infants were 5 weeks of age, we measured their neurobehavior by using the Neonatal Intensive Care Unit Network Neurobehavioral Scale (NNNS).

Results : neither PBDE nor PFC exposures during gestation were associated with the 11 individual NNNS outcomes included in our study; however, when we used latent profile analysis to categorize infants into neurobehavioral profiles based on performance on the NNNS (social/easygoing, high arousal/difficult, or hypotonic), a 10-fold increase in prenatal PFOA concentrations significantly increased the odds of being categorized as hypotonic compared with social/easygoing (aOR 3.79; 95% CI 1.1-12.8).

Conclusions : infants of mothers with greater serum concentrations of PFOA during pregnancy were more likely to be categorized as hypotonic. No association between PBDE concentrations and hypotonia was found. Additional studies should further investigate possible associations of prenatal PFC exposure and muscle tone in infants and children.

Wang BL, Pang ST, Zhang XL, Li XL, Sun YG, Lu XM, et al. Levels of polybrominated diphenyl ethers in settled house dust from urban dwellings with resident preschool-aged children in Nanjing, China. Archives of environmental contamination and toxicology. 2015 ; 68(1) : 9-19.

We investigated the levels and possible determinants of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the settled house-dust (SHD) of urban dwellings with resident preschool-aged children in Nanjing, China. The possible neurodevelopmental effects of house-dust PBDEs were also explored. SHD was collected from 216 urban houses. Levels of 8 PBDEs were measured by gas chromatography-negative chemical ionization mass spectrometry. The Child Behavior Checklist and the Gesell Development Inventory were used to evaluate the child's development. BDE-47, BDE-99, BDE-153, BDE-18, and BDE-209 were detected in the SHD of > 90 % of houses, of which BDE-209 predominated. Most PBDEs were found at significantly greater levels in indoor than in outdoor dust ($p < 0.05$). Levels of BDE28 and BDE-154 in houses with solid-wood floors were significantly greater than those in houses with plywood floors ($p < 0.05$). BDE-154 levels in houses with wallpaper were significantly greater than those without wallpaper ($p < 0.05$). Greater BDE-47 concentrations were found in houses with less natural ventilation time (linear trend $p < 0.05$). After dichotomization at the geometric mean concentration, BDE-209 and total BDEs showed significant risks for depressed behavior problems and lower personal social developmental quotients (DQs); BDE-99 and BDE-153 indicated a risk for lower personal social DQs. In conclusion, PBDEs (especially BDE-209) are ubiquitous in urban SHD in Nanjing residences. Natural ventilation and floor materials potentially influence PBDE levels in SHD. The potential adverse effect of postnatal exposure to PBDEs on the behavior and neurodevelopment of preschool-age children requires follow-up in larger studies.

Adgent MA, Hoffman K, Goldman BD, Sjodin A, Daniels JL. Brominated flame

retardants in breast milk and behavioural and cognitive development at 36 months. Paediatric and perinatal epidemiology. 2014 ; 28(1) : 48-57.

Background : polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are persistent flame retardants found in the environment, in household dust, and in humans. Breast feeding is a prominent route of exposure in infancy. PBDEs adversely affect neurodevelopment in animals. Here, we estimate associations between PBDEs in breast milk and behaviour and cognitive skills in children at 36 months of age.

Methods : we prospectively studied 304 mothers and their children. We measured PBDEs in breast milk collected at 3 months postpartum. At 36 months, we measured child behaviour with the parent-rated Behavioral Assessment System for Children 2 (n = 192), and cognitive skills with the Mullen Scales of Early Learning (n = 184). We analysed data with robust regression.

Results : we detected BDE-28, 47, 99, 100, and 153 in > 70% of milk samples. For each congener, the highest quartile of breast milk PBDE concentration, vs. the lowest, was associated with more anxious behaviour, after confounder adjustment. Select congeners were associated with increased withdrawal (BDE-28) and improved activity of daily living skills (BDE-153). Cognitive skills tended to be positively associated with PBDEs, especially language and fine motor skills. However, most estimates were imprecise.

Conclusions : here, lactational PBDE exposure was modestly and imprecisely associated with anxiety and withdrawal, but was also associated with improved adaptive and cognitive skills. Positive factors associated with breast feeding may have mitigated some of the hypothesised adverse neurodevelopmental outcomes associated with PBDEs. Further research is needed to inform our understanding of PBDE neurotoxicity and how sources of exposure might confound neurodevelopmental studies.

Chen A, Yolton K, Rauch SA, Webster GM, Hornung R, Sjodin A, et al. Prenatal polybrominated diphenyl ether exposures and neurodevelopment in U.S. children through 5 years of age : the HOME study. Environmental health perspectives. 2014 ; 122(8) : 856-62.

Background : polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are persistent chemicals that have been widely used as flame retardants in furniture, carpet padding, car seats, and other consumer products during the past three decades.

Objective : we examined whether in utero exposure to PBDEs is associated with child cognitive function and behavior in a U.S. study sample.

Methods : in a prospective birth cohort, we measured maternal serum concentrations of BDE-47 and other PBDE congeners in 309 women at 16 weeks of gestation during 2003-2006 and followed their children in Cincinnati, Ohio. We measured cognitive and motor abilities using the Bayley Scales of Infant Development-II at ages 1, 2, and 3 years; intelligence using the Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence-III at age 5 years; and children's behaviors using the Behavioral Assessment System for Children-2 annually at ages 2-5 years. We used linear mixed models or generalized estimating equations with adjustment for potential confounders to estimate associations between these outcomes and log₁₀-transformed PBDE concentrations.

Results : the geometric mean of BDE-47 in maternal serum (20.1 ng/g lipid) was comparable with U.S. adult national reference values. Prenatal BDE-47 was not significantly associated with Bayley Mental or Psychomotor Development Indices at 1-3 years, but a 10-fold increase in prenatal BDE-47 was associated with a 4.5-point decrease (95% CI : -8.8, -0.1) in Full-Scale IQ and a 3.3-point increase (95% CI : 0.3, 6.3) in the hyperactivity score at age 5 years.

Conclusions : prenatal exposure to PBDEs was associated with lower IQ and higher hyperactivity scores in children.

Gascon M, Fort M, Martinez D, Carsin AE, Forn J, Grimalt JO, et al. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in breast milk and neuropsychological development in infants. Environmental health perspectives. 2012 ; 120(12) : 1760-5.

Background : there is increasing interest in the potential effects of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) on children's neuropsychological development, but only a few small studies have evaluated such effects.

Objectives : our goal was to examine the association between PBDE concentrations in colostrum and infant neuropsychological development and to assess the influence of other persistent organic pollutants (POPs) on such association.

Methods : we measured concentrations of PBDEs and other POPs in colostrum samples of 290 women recruited in a Spanish birth cohort. We tested children for mental and psychomotor development with the Bayley Scales of Infant Development at 12-18 months of age. We analyzed the sum of the seven most common PBDE congeners (BDEs 47, 99, 100, 153, 154, 183, 209) and each congener separately.

Results : increasing Σ 7PBDEs concentrations showed an association of borderline statistical significance with decreasing mental development scores (β per log ng/g lipid = -2.25; 95% CI : -4.75, 0.26). BDE-209, the congener present in highest concentrations, appeared to be the main congener responsible for this association (β = -2.40, 95% CI : -4.79, -0.01). There was little evidence for an association with psychomotor development. After adjustment for other POPs, the BDE-209 association with mental development score became slightly weaker (β = -2.10, 95% CI : -4.66, 0.46).

Conclusions : our findings suggest an association between increasing PBDE concentrations in colostrum and a worse infant mental development, particularly for BDE-209, but require confirmation in larger studies. The association, if causal, may be due to unmeasured BDE-209 metabolites, including OH-PBDEs (hydroxylated PBDEs), which are more toxic, more stable, and more likely to cross the placenta and to easily reach the brain than BDE-209.

Hoffman K, Adgent M, Goldman BD, Sjodin A, Daniels JL. Lactational exposure to polybrominated diphenyl ethers and its relation to social and emotional development among toddlers. Environmental health perspectives. 2012 ; 120(10) : 1438-42.

Background : polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) have been widely used as flame retardants and are ubiquitous environmental contaminants. PBDEs have been linked to adverse neurodevelopment in animals and humans.

Objectives : we investigated the association between breast milk PBDE levels and social and emotional development in toddlers.

Methods : the Pregnancy Infection and Nutrition (PIN) and PIN Babies studies followed a cohort of North Carolina pregnant women and their children through 36 months of age. Breast milk samples obtained at 3 months postpartum were analyzed for PBDEs. The Infant-Toddler Social and Emotional Assessment (ITSEA) was completed by mothers when children were approximately 30 months of age (n = 222). We assessed the relationship between breast milk concentrations of five PBDE congeners BDEs 28, 47, 99, 100, and 153-and children's social and emotional development, adjusting for other factors.

Results : a small, imprecise, yet consistent positive association was apparent between BDEs 47, 99, and 100 and increased externalizing behaviors, specifically activity/impulsivity behaviors. Externalizing domain T-scores ranged from 30 to 87 with a mean of 47.8. Compared with those with BDE-47 concentrations below the median, adjusted externalizing behavior domain scores were 1.6 [95% confidence interval (CI): -1.2, 4.4] and 2.8 (95% CI - 0.1, 5.7) points higher for children born to women with breast milk concentrations in the 3rd and 4th quartiles, respectively. PBDEs were not associated with other social and emotional developmental domains.

Conclusions : our results, although imprecise, suggest a subtle association between early-life PBDE exposure and increased activity/impulsivity behaviors in early childhood. Confirmation of these results is needed in other longitudinal studies.

Chao HR, Tsou TC, Huang HL, Chang-Chien GP. Levels of breast milk PBDEs from southern Taiwan and their potential impact on neurodevelopment. Pediatric research. 2011 ; 70(6) : 596-600.

In vivo studies have demonstrated that prenatal or neonatal exposure to polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) causes developmental neurotoxicity. However, there is a lack of human data. Our hypothesis was that PBDEs would result in lower infant neurodevelopment scores. This is a post hoc analysis of previous studies. Fourteen PBDEs in 70 breast milk were analyzed using a high-resolution gas chromatograph/high-resolution mass spectrometer. Infant neurodevelopment at the age of 8-12 mo was determined using the Bayley Scales of Infants and Toddlers Development, third edition (Bayley-III). The median of Σ_{14} PBDEs (the sum of 14 PBDE congeners) was 2.92 ng/g lipid. The Σ_{14} PBDE concentrations were not correlated with Bayley-III scores on cognitive, language, motor, social-emotional, or adaptive behavior scales. A significantly inverse association between brominated diphenyl ether BDE-209 and the cognitive scale was found after multivariate stepwise linear regression analyses (B = -0.007, adjusted R = -0.224, p = 0.032). In contrast, the language scale was positively correlated with BDE-196 (B = 0.096, adjusted R = 0.315, p = 0.002). Our results are consistent with most in vivo studies, suggesting that prenatal or postnatal exposure to BDE-209 potentially delays the neurological development.

Herbstman JB, Sjodin A, Kurzon M, Lederman SA, Jones RS, Rauh V, et al. Prenatal exposure to PBDEs and neurodevelopment. Environmental health perspectives. 2010 ; 118(5) : 712-9.

Background : polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are widely used flame retardant

compounds that are persistent and bioaccumulative and therefore have become ubiquitous environment contaminants. Animal studies suggest that prenatal PBDE exposure may result in adverse neurodevelopmental effects.

Objectives : in a longitudinal cohort initiated after 11 September 2001, including 329 mothers who delivered in one of three hospitals in lower Manhattan, New York, we examined prenatal PBDE exposure and neurodevelopment when their children were 12-48 and 72 months of age.

Methods : we analyzed 210 cord blood specimens for selected PBDE congeners and assessed neurodevelopmental effects in the children at 12-48 and 72 months of age; 118, 117, 114, 104, and 96 children with available cord PBDE measurements were assessed at 12, 24, 36, 48, and 72 months, respectively. We used multivariate regression analyses to evaluate the associations between concentrations of individual PBDE congeners and neurodevelopmental indices.

Results : median cord blood concentrations of PBDE congeners 47, 99, and 100 were 11.2, 3.2, and 1.4 ng/g lipid, respectively. After adjustment for potential confounders, children with higher concentrations of BDEs 47, 99, or 100 scored lower on tests of mental and physical development at 12-48 and 72 months. Associations were significant for 12-month Psychomotor Development Index (BDE-47), 24-month Mental Development Index (MDI) (BDE-47, 99, and 100), 36-month MDI (BDE-100), 48-month full-scale and verbal IQ (BDE-47, 99, and 100) and performance IQ (BDE-100), and 72-month performance IQ (BDE-100).

Conclusions : this epidemiologic study demonstrates neurodevelopmental effects in relation to cord blood PBDE concentrations. Confirmation is needed in other longitudinal studies.

Li et al. (2010) Infants ingesting high breast milk levels of polybrominated diphenyl ethers may have negative impact on their neurodevelopment, ICCCE 2010 - 2010 International Conference on Chemistry and Chemical Engineering, Proceedings 5560424, pp. 325-327

Our goal was to design a follow-up cohort study for infant exposure to PBDEs. Thirty-five breastfed infants having breast milk PBDE levels were recruited from our cohort at approximately one-year old. Eleven PBDEs (BDE-47, 99, 100, 153, 154, 196, 197, 206, 207, 208, and 209) in breast milk were analyzed using a high resolution gas chromatograph with a high resolution mass spectrometer. Infant development was determined using the Bayley Scales of Infant and Toddler Development, Third Edition. The mean of Σ PBDEs in breast milk was 7.00 ng/g lipid. Higher Σ PBDEs in breast milk was significantly correlated with a lower score of the cognitive scale ($r = -0.369$, $p = 0.029$). Increased Σ PBDEs was significantly linked to decreased the adaptive behavior scale ($p = 0.017$). After adjusting for maternal age, pre-pregnant body mass index (BMI), baby's sex, gestational age, and infant's current age for testing Bayley scales, an adjusted odds ratio (OR) (OR = 0.966, $p = 0.035$) of the cognitive score in infants with BDE-100 ≥ 75 percentile was significantly lower compared with the control group (BDE-100 < 75%) using logistic regression models. Infants with BDE-207, 208, and 209 $\geq 75\%$ (ORs = 0.802-0.818, $p = 0.043$ -0.047) had significantly lower adjusted ORs of the adaptive-behavior scores compared with control groups. The findings of the present study were that infants exposure to a high level of BDE-100 might suffer from developmental delay for cognition, while exposure to high levels of BDE-207, 208, and 209 might reduce their adaptive behavior.

Byun HM, Benachour N, Zalko D, Frisardi MC, Colicino E, Takser L, et al. Epigenetic effects of low perinatal doses of flame retardant BDE-47 on mitochondrial and nuclear genes in rat offspring. *Toxicology*. 2015 ; 328 : 152-9.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are known endocrine disrupting chemicals used commonly as flame retardants in everything from electronics to furniture. Exposure to PBDEs during early development has been linked to neurodevelopmental delays. Despite mounting evidence of neurological harm from PBDE exposure, the molecular mechanisms underlying these effects on brain function remain unknown. We examined the effects of perinatal exposure to BDE-47, the most biologically active and prevalent BDE congener in North America, on epigenetic patterns in the frontal lobe of Wistar rats. Dams were gavaged with BDE-47 (0.002 and 0.2mg.kg⁻¹ body weight) at gestation days 9 and 16, and postnatal days 1, 8, and 15. Frontal lobes from offspring at postnatal day 41 were collected to measure 5-methylcytosine (5mC) in mitochondrial cytochrome c oxidase genes (Mt-co1, Mt-co2, and Mt-co3), global nuclear 5-hydroxymethylcytosine (5hmC) content, 5mC in repetitive elements L1Rn, and 5mC in nuclear genes (Bdnf, Crhr1, Mc2r, Nr3c1, and Snca) related to behavioral and brain functions in the nuclear genome. We observed a significant decrease in %5mC in Mt-co2 (difference from control = -0.68%, p = 0.01 at the 0.2mg.kg⁻¹ BDE-47). 5mC in repetitive elements L1Rn decreased at 0.002 mg.kg⁻¹ BDE-47 (difference = -1.23%, p = 0.02). Decreased nuclear 5mC was observed in Bdnf and Nr3c1 in BDE-47 exposed rats. However, we did not observe significant effects of PBDE toxicity on DNA methylation patterns for the majority of genes in the brain.

Hendriks HS, Koolen LA, Dingemans MM, Viberg H, Lee I, Leonards PE, et al. Effects of neonatal exposure to the flame retardant tetrabromobisphenol-A, aluminum diethylphosphinate or zinc stannate on long-term potentiation and synaptic protein levels in mice. *Archives of toxicology*. 2015 ; 89(12) : 2345-54.

Brominated flame retardants such as tetrabromobisphenol-A (TBBPA) may exert (developmental) neurotoxic effects. However, data on (neuro)toxicity of halogen-free flame retardants (HFFRs) are scarce. Recent in vitro studies indicated a high neurotoxic potential for some HFFRs, e.g., zinc stannate (ZS), whereas the neurotoxic potential of other HFFRs, such as aluminum diethylphosphinate (Alpi), appears low. However, the in vivo (neuro) toxicity of these compounds is largely unknown. We therefore investigated effects of neonatal exposure to TBBPA, Alpi or ZS on synaptic plasticity in mouse hippocampus. Male C57bl/6 mice received a single oral dose of 211 µmol.kg⁻¹ bw TBBPA, Alpi or ZS on postnatal day (PND) 10. On PND 17-19, effects on hippocampal synaptic plasticity were investigated using ex vivo extracellular field recordings. Additionally, we measured levels of postsynaptic proteins involved in long-term potentiation (LTP) as well as flame retardant concentrations in brain, muscle and liver tissues. All three flame retardants induced minor, but insignificant, effects on LTP. Additionally, TBBPA induced a minor decrease in post-tetanic potentiation. Despite these minor effects, expression of selected synaptic proteins involved in LTP was not affected. The flame retardants could not be measured in significant amounts in the brains, suggesting low bioavailability and/or rapid elimination/metabolism. We therefore conclude that a single neonatal exposure on PND 10 to TBBPA, Alpi or ZS does affect neurodevelopment and synaptic plasticity only to a small extent in mice. Additional data, in

particular on persistence, bioaccumulation and (in vivo) toxicity, following prolonged (developmental) exposure are required for further (human) risk assessment.

Miller-Rhodes P, Popescu M, Goeke C, Tirabassi T, Johnson L, Markowski VP. Prenatal exposure to the brominated flame retardant hexabromocyclododecane (HBCDD) impairs measures of sustained attention and increases age-related morbidity in the Long-Evans rat. *Neurotoxicology and teratology*. 2014 ; 45 : 34-43.

Hexabromocyclododecane (HBCDD) is a brominated flame retardant that is widely-used in foam building materials and to a lesser extent, furniture and electronic equipment. After decades of use, HBCDD and its metabolites have become globally-distributed environmental contaminants that can be measured in the atmosphere, water bodies, wildlife, food staples and human breastmilk. Emerging evidence suggests that HBCDD can affect early brain development and produce behavioral consequences for exposed organisms. The current study examined some of the developmental and lifelong neurobehavioral effects of prenatal HBCDD exposure in a rat model. Pregnant rats were gavaged with 0, 3, 10, or 30mg.kg⁻¹ HBCDD from gestation day 1 to parturition. A functional observation battery was used to assess sensorimotor behaviors in neonates. Locomotor and operant responding under random ratio and Go/no-go schedules of food reinforcement were examined in cohorts of young adult and aged rats. HBCDD exposure was associated with increased reactivity to a tailpinch in neonates, decreased forelimb grip strength in juveniles, and impaired sustained attention indicated by Go/no-go responding in aged rats. In addition, HBCDD exposure was associated with a significant increase in morbidity in the aged cohort. One health complication, a progressive loss of hindleg function, was observed only in the aged, 3mg.kg⁻¹ HBCDD animals. These effects suggest that HBCDD is a developmental neurotoxicant that can produce long-term behavioral impairments that emerge at different points in the lifespan following prenatal exposure.

Reverte I, Domingo JL, Colomina MT. Neurodevelopmental effects of decabromodiphenyl ether (BDE-209) in APOE transgenic mice. *Neurotoxicology and teratology*. 2014 ; 46 : 10-7.

Exposure to low doses of neurotoxic pollutants during early brain development is a public health concern. Perinatal exposure to polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) has been associated with neurodevelopmental effects in infants and long-term behavioral alterations in rodents. Decabromodiphenyl ether (BDE-209) is extensively used in the industry, with its potential risk to humans still under examination. In a previous study, we found that a single postnatal administration of BDE-209 impaired spatial learning in mice at 12 months of age, but a similar alteration was present in young mice carrying a specific genotype of apolipoprotein E (apoE). On the basis of our results, the main goal of the current investigation was to assess whether the same exposure to BDE-209 would affect the neurodevelopment of apoE transgenic mice. We used a functional observational battery (FOB) to evaluate the physical and neuromotor maturation of transgenic mice carrying different apoE polymorphisms ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$, and $\epsilon 4$). On postnatal day 10, BDE-209 was administered orally at 0, 10 and 30 mg.kg⁻¹ and neurodevelopmental screening was carried out until postnatal day 36. We observed a subtle delay in eye opening in mice carrying the apoE4 genotype. Exposure to the high dose of BDE-209 retarded the eye opening of apoE2

mice, but no other developmental features were affected. The results indicate few effects of BDE-209 during development, while the vulnerability conferred by the apoE genotype may vary depending on age. Identifying relevant early gene-environment interactions is fundamental for a better understanding of adult health and disease.

Reverte I, Pujol A, Domingo JL, Colomina MT. Thyroid hormones and fear learning but not anxiety are affected in adult apoE transgenic mice exposed postnatally to decabromodiphenyl ether (BDE-209). *Physiology & behavior*. 2014 ; 133 : 81-91.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are a family of industrial chemicals used as flame retardants. The fully brominated deca-BDE (BDE-209) is the most used and its potential risk for humans is controversial. The ability of PBDEs to target nervous and endocrine systems suggests multiple enduring effects after perinatal exposure. Cognitive and motor behavior alterations have been reported after developmental exposure to PBDEs, including BDE-209, whereas very little work has been carried out on anxiety and emotional learning. We have previously reported long-term effects of postnatal BDE-209 exposure on spatial memory dependent upon apolipoprotein E (apoE) polymorphism and age. ApoE is involved in lipid transport and its different polymorphisms ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$) confer different vulnerabilities to neurodegeneration, cognitive impairment and anxiety. In the present study we assessed the long term effects of early exposure to BDE-209 on anxiety, fear learning and thyroid hormone levels in mice carrying different apoE polymorphisms ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$). BDE-209 (0, 10 and 30 mg.kg⁻¹) was orally administered on postnatal day 10 (PND 10). At 4 and 12 months of age mice were tested in an open field (OF) and an elevated zero maze (EZM). Fear conditioning and thyroid hormone levels were evaluated in mice at 5-6 months of age. Postnatal exposure to BDE-209 impaired cued fear learning in apoE2 and apoE3 mice. Levels of thyroid hormones were increased in apoE3 female mice exposed to BDE-209. Our findings indicate long lasting effects of BDE-209 on emotional learning and thyroid hormone levels after a single postnatal exposure.

Zhao W, Cheng J, Gu J, Liu Y, Fujimura M, Wang W. Assessment of neurotoxic effects and brain region distribution in rat offspring prenatally co-exposed to low doses of BDE-99 and methylmercury. *Chemosphere*. 2014 ; 112 : 170-6.

Exposure to polybrominated diphenyl ether (PBDE) and methylmercury (MeHg) can occur simultaneously as both contaminants are found in the same food sources, especially fish, seafood, marine mammals and milk. The aim of this study was to assess the effects of exposure to low levels of MeHg (2.0 µg mL⁻¹ in drinking water) and BDE-99 (0.2 mg.kg⁻¹ d⁻¹) from gestational day 6 to postnatal day (PND) 21, alone and in combination, on neurobehavioral development and redox responses in offspring. The present study demonstrated an interaction due to co-exposure with low doses of MeHg and BDE-99 enhanced developmental neurotoxic effects. These effects were manifested as the delayed appearance of negative geotaxis reflexes, impaired motor coordination, and induction of oxidative stress in the cerebellum. In particular, the cerebellum may be a sensitive target for combined MeHg and BDE-99 toxicity. The neurotoxicity of low dose MeHg was exacerbated by the presence of low dose of BDE-99. It is concluded that prenatal co-exposure to MeHg and BDE-99 causes oxidative stress in the cerebellum of offspring by altering the activity of different antioxidant enzymes and producing free radicals. Hg retention was not affected by

co-exposure to BDE-99. However, MeHg co-exposure seemed to increase BDE-99 concentrations in selected brain regions in pups compared to pups exposed to BDE-99 only. These results showed that the adverse effects following prenatal co-exposure to MeHg and BDE-99 were associated with tissue concentrations very close to the current human body burden of this persistent bioaccumulative compound.

Tseng LH, Hsu PC, Lee CW, Tsai SS, Pan MH, Li MH. Developmental exposure to decabrominated diphenyl ether (BDE-209) : effects on sperm oxidative stress and chromatin DNA damage in mouse offspring. *Environmental toxicology*. 2013 ; 28(7) : 380-9.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are used as brominated flame retardants and have been found in human milk in recent years. This study investigates whether prenatal exposure to decabrominated diphenyl ether (BDE-209) induces sperm dysfunction in male offspring. Pregnant CD-1 mice were gavaged once daily with corn oil (control), 10, 500, and 1500 mg.kg⁻¹ body weight of BDE-209 from day 0 of gestation to day 17. The outcomes of male reproductive parameters were assessed on postnatal day 71. Anogenital distance, sperm-head abnormalities, and testicular histopathology were significantly affected in male offspring prenatally exposed to 1500 mg.kg⁻¹. Significant increases in the tendency for sperm DNA denaturation (α T) induction and the DNA fragmentation index (DFI) were found in those exposed to 10, 500, and 1500 mg.kg⁻¹ ($p < 0.05$). We observed a significant increase of sperm hydrogen peroxide (H₂O₂) generation in the 10 and 1500 mg/kg/day groups compared to the control group ($p < 0.05$). Although our findings suggested that the mechanisms underlying BDE-209-induced sperm DNA damage and H₂O₂ generation might not be represented as a dose-response relationship, we found that the greater the excess production of sperm H₂O₂, the greater the sperm α T ($r = 0.65$, $P = 0.0155$) and DFI ($r = 0.53$, $P = 0.002$). In conclusion, developmental exposure to BDE-209 induced sperm-head abnormality, oxidative stress, chromatin DNA damage, and testicular histopathological changes. These findings suggest that BDE-209-induced male reproductive effects might involve the formation of sperm H₂O₂ which attacks nucleic acids via H(2)O(2) generation.

Zhang HM, Li X, Chang LJ, Zhang HJ, Niu Q. [Effects of polybrominated diphenyl ether-153 lactation exposure on the concentrations of intracellular calcium ion and calcium-activated related enzymes levels of adult rats' cerebral cortex]. *Zhonghua lao dong wei sheng zhi ye bing za zhi = Zhonghua laodong weisheng zhiyebing zazhi = Chinese journal of industrial hygiene and occupational diseases*. 2013 ; 31(7) : 515-8.

Objective : to investigate the effects of polybrominated diphenyl ether-153 (BDE-153) exposure during lactation period on the calcium ion (Ca²⁺) concentration and calcium-activated enzyme levels in cerebral cortical cells among adult rats and to provide a scientific basis for the study on the developmental neurotoxicity of BDE-153.

Methods : forty newborn male rats were randomly and equally divided into four groups according to their body weights and litters : 1, 5, and 10 mg.kg⁻¹ BDE-153 groups and olive oil solvent control group. On postnatal day 10 (PND 10), the BDE-153 groups were administrated BDE-153 (0.1 ml/10 g body weight) by intraperitoneal injection, while the olive oil solvent control group was given an equal volume of olive oil. Two months later, these rats were decapitated, and the cerebral cortex was separated quickly on an ice-cold dish. The

Ca²⁺ concentration in cerebral cortical cells was measured by flow cytometry. The activities of calcineurin (CaN) and Ca²⁺-Mg²⁺-ATP enzyme were determined by colorimetric method. The mRNA and protein expression of calpain-1 and calpain-2 was measured by real-time quantitative PCR and Western blot.

Results : the mean fluorescence intensities of intracellular Ca²⁺ in control group and 1, 5, and 10 mg.kg⁻¹ BDE-153 groups were 10.83, 1.48, 1.93, and 0.62, respectively; the 1, 5, and 10 mg.kg⁻¹ BDE-153 groups had significantly lower intercellular Ca²⁺ concentrations than the control group ($p < 0.05$). The activities of CaN and Ca²⁺-Mg²⁺-ATP enzyme and mRNA and protein expression of calpain-1 showed no significant differences between the 1, 5, and 10 mg.kg⁻¹ BDE-153 groups and control group ($p > 0.05$). The protein expression of calpain-2 increased as the dose of BDE-153 rose. Compared with the control group (mRNA : 0.81 ± 0.26 ; protein : 0.15 ± 0.07), the 5 and 10 mg.kg⁻¹ BDE-153 groups had significantly higher mRNA expression of calpain-2 (5 mg.kg⁻¹ BDE-153 group : 1.16 ± 0.52 ; 10 mg.kg⁻¹ BDE-153 group : 1.32 ± 0.23) and significantly higher protein expression of calpain-2 (5 mg.kg⁻¹ BDE-153 group : 0.31 ± 0.07 ; 10 mg.kg⁻¹ BDE-153 group : 0.37 ± 0.06) ($p < 0.05$). The 10 mg.kg⁻¹ BDE-153 group had significantly higher protein expression of calpain-2 than the 1 mg.kg⁻¹ BDE-153 group (0.37 ± 0.06 vs 0.22 ± 0.07 , $p < 0.05$).

Conclusion : ca²⁺ mediated calpain-2 activation may be one of the main mechanisms of BDE-153 neurotoxicity.

Zhang H, Li X, Nie J, Niu Q. Lactation exposure to BDE-153 damages learning and memory, disrupts spontaneous behavior and induces hippocampus neuron death in adult rats. Brain research. 2013 ; 1517 : 44-56.

Objective : to study the effects of 2,2',4,4',5,5'-hexa- brominated diphenyl ether (BDE-153) exposure during lactation on the learning and memory abilities, spontaneous behavior and brain cells of adult rats and to elicit basic information on PBDE's developmental neurotoxicity.

Methods : newborn male rat pups were randomly categorized into the following groups (15 pups per group), according to their weights and litters : a control group, and 1 mg.kg⁻¹, 5 mg.kg⁻¹ and 10 mg.kg⁻¹ BDE-153 groups. At postnatal day 10 (PND10), the pups in the BDE-153 groups were intraperitoneally injected once with BDE-153 plant oil solutions at 0.1 ml/10 g body weight, and the controls were injected with plant oil. Throughout the entire experiment, physiological measures were recorded, such as food and water consumption, body weight and clinical symptoms. At 1 month and 2 months after treatment, the learning and memory abilities of the rats were tested by the Morris water maze test, the step-down test, and the step-through test; spontaneous behavior was tested by the open-field test. After all tests were accomplished, rats were weighed and sacrificed, and the brain tissue was immediately isolated and divided into two parts. Sections were fabricated from one part, and changes in the morphology and ultrastructure in CA3 region of hippocampus were observed under an optical microscope and transmission electron microscope, along with the detection of apoptotic cells with the terminal-deoxynucleotidyl transferase-mediated nick end labeling (TUNEL) method. The tissue of the second part was digested into single-cell suspension liquid, and the cell apoptosis was assayed with flow cytometry and the lactate dehydrogenase (LDH) leakage was detected with spectrophotometry.

Results : there was no obvious change in food and water consumption, body weight and the ratio of brain to body weight, or any overt clinical symptoms in the BDE-153-treated rats.

Compared to the control group, rats' latency time in the test session (LT2) in the step-down test was significantly increased in the 10 mg.kg⁻¹ BDE-153 group at 2 months after treatment ($p < 0.05$), and the BDE-153-treated rats' swimming times and distances in the target quadrant were significantly decreased at 1 month and 2 months after treatment ($p < 0.05$ or $p < 0.01$). These parameters were also significantly increased in the opposite quadrant at 1 month after treatment ($p < 0.05$ or $p < 0.01$). The spontaneous behavior was significantly reduced in the treated groups compared to the controls ($p < 0.05$ or $p < 0.01$). The severity of neurobehavioral dysfunction was dependent on the exposure dose of BDE-153, and worsened with age. Under an optical microscope, the treated rats' neurons in the CA3 region of the hippocampus were observed to be reduced and disarranged, and the cell junctions were loosened and the intercellular spaces were enlarged. Under a transmission electron microscope, the cell nucleus was observed to shrink; the chromatin was condensed and gathered near the nuclear membrane, the Nissl bodies and other organelles in the perikaryon were reduced, and the vacuole was observed to degenerate and even disappear. Moreover, compared to the controls, the cell apoptosis rates were significantly increased in the 5 and 10 mg.kg⁻¹ BDE-153 groups ($p < 0.05$), and the LDH activity was significantly increased in the 10 mg.kg⁻¹ BDE-153 groups ($p < 0.01$).

Conclusion : lactation exposure to BDE-153 damaged adult rats' learning and memory abilities, disrupted their spontaneous behavior (hypoactivity) and induced hippocampus neuron apoptosis.

Blanco J, Mulero M, Domingo JL, Sanchez DJ. Gestational exposure to BDE-99 produces toxicity through upregulation of CYP isoforms and ROS production in the fetal rat liver. Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology. 2012 ; 127(1) : 296-302.

On gestation day (GD) 6 to GD 19, pregnant Sprague Dawley rats were orally exposed to 0, 0.5, 1, and 2 mg/kg/day to one of the most prevalent polybrominated diphenyl ethers congeners found in humans, 2,2',4,4',5-penta-BDE (BDE-99). All dams were euthanized on GD 20, and live fetuses were evaluated for sex, body weight, and external, internal, and skeletal malformations and developmental variations. The liver from one fetus of each litter was excised for the evaluation of oxidative stress markers and the messenger RNA expression of multiple cytochrome P450 (CYP) isoforms. Exposure to BDE-99 during the gestational period produced delayed ossification, slight hypertrophy of the heart, and enlargement of the liver in fetuses. A transplacental effect of BDE-99, evidenced by the activation of nuclear hormones receptors that induce the upregulation of CYP1A1, CYP1A2, CYP2B1, and CYP3A2 isoforms, was also found in fetal liver. These isoforms are correlated with the activity level of the enzyme catalase and the levels of thiobarbituric acid reactive substances. However, teratogenic effects from BDE-99 exposure were not observed. Clear signs of embryo/fetal toxicity, due to a possible hormonal disruption, were evidenced by a large increase in the CYP system and the production of reactive oxygen species in fetal liver.

Fair PA, Stavros HC, Mollenhauer MA, DeWitt JC, Henry N, Kannan K, et al. Immune function in female B(6)C(3)F(1) mice is modulated by DE-71, a commercial polybrominated diphenyl ether mixture. Journal of immunotoxicology. 2012 ; 9(1) : 96-107.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are an important class of flame-retardants that are environmentally persistent and bioaccumulative. Toxicity of these compounds has become a concern because detectable levels of PBDEs are present in humans and wildlife and they are structurally similar to polychlorinated biphenyls (PCBs). This study examined the effects of the commercial penta-BDE mixture, DE-71, in adult female B(6)C(3)F(1) mice on hematology, serum clinical chemistry, thyroid hormones, tissue histology, and several immunotoxicity end-points (lymphocyte proliferation, NK cell activity, splenic immunophenotypes, and SRBC-specific-IgM production). Mice were exposed via oral gavage for 28 days to achieve total administered doses (TAD) of 0, 0.5, 5, 50, or 100 mg.kg⁻¹. No changes in histology, clinical chemistry, body or organ weights were observed. Serum total T3 and T4 levels were not altered by any of the DE-71 treatments. Peripheral blood monocyte numbers were decreased by the 0.5, 5, and 50 mg.kg⁻¹ treatments, but not by the 100 mg.kg⁻¹ TAD concentration. Compared to controls, mitogen-stimulated T- and B-cell proliferation was increased by the 100 mg.kg⁻¹ TAD concentration (ED(50) = 60 mg.kg⁻¹ TAD [2.14 mg/kg/day] and 58 mg.kg⁻¹ TAD [2.57 mg/kg/day], respectively). NK cell activity was decreased compared to controls by the 100 mg.kg⁻¹ TAD concentration (ED(50) = 20 mg.kg⁻¹ TAD [0.7 mg/kg/day]). No alterations were noted in thymic T-cell populations or in SRBC-specific-IgM production. Numbers of CD19 (+) CD21 (-), CD19 (+) CD21 (+), CD4 (+) CD8 (-), CD4 (-) CD8 (+), CD4 (-) CD8 (-), and MHC-II (+) cells in the spleen were not affected. However, the numbers of splenic CD4 (+) CD8 (+) cells were decreased compared to the controls by 0.5, 5, and 100 mg.kg⁻¹ TAD. This study provides an assessment of the systemic toxicity and immunotoxicity of DE-71, and indicates that immune parameters are modulated at exposure concentrations lower than previously reported.

Heredia L, Torrente M, Colomina MT, Domingo JL. Behavioral effects of oral subacute exposure to BDE-209 in young adult mice : a preliminary study. Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association. 2012 ; 50(3-4) : 707-12.

In this study, we examined the effects of an oral subacute exposure to 2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-decabromodiphenyl ether (BDE-209) on young adult inbred wild type Tg2576 mice. BDE-209 was administered by gavage at doses of 0 and 20 mg/kg/day dissolved in sunflower oil for 15. days. Two behavioral endpoints were examined: anxiety-activity in a light/dark test and a zero maze test, and learning and spatial memory in a water maze test. Young adult mice exposed to BDE-209 showed a reduction in anxiety levels and a delayed learning in a spatial memory task. Although the results indicated that behavioral effects were present in a young adult exposed population of wild type Tg2576 mice, further studies on chronic exposure to BDE-209 are clearly necessary in order to corroborate these effects.

Koenig CM, Lango J, Pessah IN, Berman RF. Maternal transfer of BDE-47 to offspring and neurobehavioral development in C57BL/6J mice. Neurotoxicology and teratology. 2012 ; 34(6) : 571-80.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are flame retardants used worldwide in a variety of commercial goods, and are now widely found in both environmental and biological samples. BDE-47 is one of the most pervasive of these PBDE congeners and therefore is of particular concern. In this study C57BL/6J mice were exposed perinatally to 0.03, 0.1 or 1mg/kg/day of

BDE-47, a dose range chosen to encompass human exposure levels. Tissue levels of BDE-47 were measured in the blood, brain, fat and milk of dams and in whole fetal homogenate and blood and brain of pups on gestational day (GD) 15, and postnatal days (PNDs) 1, 10 and 21. From GD 15 to PND 1 levels of BDE-47 increased within dam tissues and then decreased from PNDs 1 to 21. Over the period of lactation levels in dam milk were comparatively high when compared to both brain and blood for all dose groups. Measurable levels of BDE-47 were found in the fetus on GD 15 confirming gestational exposure. From PNDs 1 to 21, levels of BDE-47 in pup tissue increased over the period of lactation due to the transfer of BDE-47 through milk. Behavioral tests of fine motor function and learning and memory were carried out between postnatal weeks 5-17 in order to evaluate the neurobehavioral toxicity of BDE-47. Behavioral deficits were only seen in the Barnes spatial maze where mice in the three exposure groups had longer latencies and traveled longer distances to find the escape hole when compared to vehicle control mice. These results support the conclusions that perinatal exposure to BDE-47 can have neurodevelopmental consequences, and that lactational exposure represents a significant exposure risk during development.

Saegusa Y, Fujimoto H, Woo GH, Ohishi T, Wang L, Mitsumori K, et al. Transient aberration of neuronal development in the hippocampal dentate gyrus after developmental exposure to brominated flame retardants in rats. Archives of toxicology. 2012 ; 86(9) : 1431-42.

We immunohistochemically investigated the impact and reversibility of three brominated flame retardants (BFRs) known to be weak thyroid hormone disruptors on neuronal development in the hippocampal formation and apoptosis in the dentate subgranular zone. Pregnant Sprague-Dawley rats were exposed to 10, 100, or 1,000 ppm decabromodiphenyl ether (DBDE); 100, 1,000 or 10,000 ppm tetrabromobisphenol A (TBBPA) or 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (HBCDD) in the diet from gestational day 10 through to day 20 after delivery (weaning). On postnatal day (PND) 20, interneurons in the dentate hilus-expressing reelin increased with all chemicals, suggestive of aberration of neuronal migration. However, this increase had disappeared by PND 77. NeuN-positive mature neurons increased in the hilus on PND 77 with all chemicals. In the subgranular zone on PND 20, an increase in apoptotic bodies suggestive of impaired neurogenesis was observed after exposure to TBBPA or HBCDD. The effects on neuronal development were detected at doses of ≥ 100 ppm DBDE ; $\geq 1,000$ ppm TBBPA; and at least at 10,000 ppm HBCDD. On PND 20, the highest dose of DBDE and HBCDD revealed mild fluctuations in the serum concentrations of thyroid-related hormones suggestive of weak developmental hypothyroidism, while TBBPA did not. Thus, DBDE and TBBPA may exert direct effect on neuronal development in the brain, but hypothyroidism may be operated for DBDE and HBCDD at high doses. An excess of mature neurons in the hilus at later stages may be the signature of the developmental effects of BFRs. However, the effect itself was reversible.

Suvorov A, Takser L. Delayed response in the rat frontal lobe transcriptome to perinatal exposure to the flame retardant BDE-47. Journal of applied toxicology : JAT. 2011 ; 31(5) : 477-83.

BDE-47 is the most prevalent congener of polybrominated diphenyl ethers, which are widely

used flame retardants, and is known for endocrine and behavioral disrupting properties in animals. Transient effect on spontaneous motor activity in rats following perinatal exposure to BDE-47 at low doses, relevant to human exposure, was reported in our previous study. The objective of this study was to screen for the long-term effects on gene expression in the brain of rats perinatally exposed to BDE-47. Wistar dams were exposed to BDE-47 (0.002 and 0.2 mg.kg⁻¹ body weight) from gestation day 15 to postnatal day (PND) 20. Total RNA was extracted from the whole brain at PND10 and the brain frontal lobes at PND41 and hybridized to whole-genome RNA expression microarrays. The genes, differentially expressed 1.5-fold, were analyzed with the DAVID bioinformatics resources for cluster and gene-term enrichment. At PND41, clusters of genes involved in nerve impulse transmission, nervous system development and functioning, and core biosynthetic process were altered, including several downregulated genes of cation channels. Representation of LINE1 RNA was decreased significantly. Altered expression of genes involved in neurodevelopment occurred at least 3 weeks after the last exposure and the behavioral manifestation of low dose BDE-47 toxicity.

Ta TA, Koenig CM, Golub MS, Pessah IN, Qi L, Aronov PA, et al. Bioaccumulation and behavioral effects of 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) in perinatally exposed mice. *Neurotoxicology and teratology*. 2011 ; 33(3) : 393-404.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are widely used flame retardants that have become pervasive environmental contaminants and may contribute to adverse health outcomes. We evaluated in mice the developmental neurotoxicity of 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47), one of the most abundant PBDE congeners detected in animal and human tissues. Female C57BL/6J mice were exposed to daily doses of 0, 0.03, 0.1 or 1 mg.kg⁻¹ beginning 4 weeks prior to conception, continuing through gestation and lactation, and ending at weaning on postnatal day (PND) 21. Levels of BDE-47 in blood, brain, liver and adipose tissues of dams were markedly increased after 4 weeks of exposure, around the time of mating, and continued to increase through the time of parturition. Blood levels of BDE-47 in the dosed dams were within the range reported in humans. BDE-47 tissue levels in the dams decreased between parturition and weaning, possibly reflecting mobilization during lactation. Brain BDE-47 levels in the offspring at PND 1 approached those of the dams at parturition. Perinatal exposure to BDE-47 resulted in significant dose dependent growth retardation, slower motor performance in several behavioral tests, and mice exposed to 1 mg/kg/day BDE-47 showed altered performance in the Morris water maze. There were no differences between groups in the numbers of pyramidal neurons in hippocampus CA1. These results document accumulation of BDE-47 in several organ systems following exposure to low-levels of BDE-47, and provide evidence that such exposure is associated with early behavioral deficits in exposed neonates.

Viberg H, Eriksson P. Differences in neonatal neurotoxicity of brominated flame retardants, PBDE-99 and TBBPA, in mice. *Toxicology*. 2011 ; 289(1) : 59-65.

Flame retardants such as polybrominated diphenyl ethers (PBDE) and tetrabromobisphenol A are used as flame retardants and detected in the environmental, wildlife species and human tissues. Exposure to PBDEs during the neonatal development of the brain has been shown to affect behavior and learning and memory in adult mice, while neonatal exposure to

TBBPA (another brominated flame retardant) did not affect behavioral variables in the adult. In this study, we hypothesized that the effects of these compounds could be reflected by changes in biochemical substrates and cholinergic receptors and have examined the levels of four proteins involved in maturation of the brain, neuronal growth and synaptogenesis and the densities of both muscarinic and nicotinic cholinergic receptors. We measured the levels of radioactivity in the brain after administration of (14)C-labelled TBBPA at different time points and saw that levels of TBPA peaked earlier and decreased faster than the earlier reported levels of PBDE-99. The protein analysis in the neonatal brain showed changes in the levels of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII), growth associated protein-43 (GAP-43) and synaptophysin following neonatal exposure to PBDE-99 (21 µmol/kg body weight), but not following exposure TBBPA. Furthermore, neonatal exposure to PBDE-99 and TBBPA caused a decrease in binding sites of the nicotinic ligand cytosine in frontal cortex. These results confirm earlier reported data that PBDE-99 can act as a developmental neurotoxicant, possibly due to its different uptake and retention in the brain compared to TBBPA. In addition, the changes in protein levels are interesting leads in the search for mechanisms behind the developmental neonatal neurotoxicity of PBDEs in general and PBDE-99 in particular, since also other compounds inducing similar adult behavioral disturbances as PBDE-99, affect these proteins during the period of rapid brain development.

Wang F, Liu W, Jin Y, Dai J, Zhao H, Xie Q, et al. Interaction of PFOS and BDE-47 co-exposure on thyroid hormone levels and TH-related gene and protein expression in developing rat brains. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*. 2011 ; 121(2) : 279-91.

Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) are two persistent environmental contaminants that are toxic to developing nervous systems, particularly via their disruption of thyroid hormone (TH) function. To investigate whether an interaction existed between PFOS and BDE-47 on TH-mediated pathways, adult female Wistar rats were exposed to 3.2 and 32 mg.kg⁻¹ of PFOS or BDE-47 in their diet and co-exposed to a combination of each chemical (3.2 mg.kg⁻¹) from gestational day 1 to postnatal day (PND) 14. Serum and brain tissues from both male and female neonates were collected on PNDs 1, 7, and 14 to examine TH-regulated gene and protein expression. The results revealed that (1) a significant accumulation difference occurred between the two chemicals; (2) On an equimolar basis, BDE-47 and PFOS affected serum total triiodothyronine and total thyroxine differently in adults and offspring; (3) there were region-specific and exposure- and time-dependent alterations in TH concentrations and tested gene and protein expression levels; and (4) interaction for the combined chemicals was only observed for brain-derived neurotrophic factor (BDNF), which exhibited a synergistic effect on PND 1 in the cortex and an antagonistic effect on PND 14 in the hippocampus. Our results suggest a complex TH-mediated gene and protein response to BDE-47 and/or PFOS exposure that seems little related to TH homeostasis and that little combined interaction of co-exposures was observed except on BDNF. The underlying mechanisms remain uncertain but seem to involve more actions than just TH-regulated pathway.

Belles M, Alonso V, Linares V, Albina ML, Sirvent JJ, Domingo JL, et al. Behavioral

effects and oxidative status in brain regions of adult rats exposed to BDE-99. Toxicology letters. 2010 ; 194(1-2) : 1-7.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are used as flame retardants. Although developmental neurotoxicity of PBDEs has been already investigated, little is still known about their potential neurotoxic effects in adulthood. In this study, we assessed the oxidative damage in brain sections and the possible behavioral effects induced by exposure to 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether (BDE-99). Adult male rats (10/group) received BDE-99 by gavage at single doses of 0, 0.6 or 1.2 mg/kg/body weight. Forty-five days after exposure, the following behavioral tests were conducted: open-field activity, passive avoidance and Morris water maze. Moreover, cortex, hippocampus and cerebellum were processed to examine the following oxidative stress (OS) markers: reduced glutathione (GSH), oxidized glutathione (GSSG), glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GPx), glutathione-S-transferase (GST), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). In cerebellum, BDE-99 significantly decreased SOD, CAT and GR activities at the highest BDE-99 dose. A decrease in CAT and SOD activities was also observed in cortex and hippocampus, respectively. In the behavioral tests, no BDE-99 effects were observed, while histopathological examination of the brain regions was normal. The current results show that the brain antioxidant capacity is affected by BDE-99 exposure, mainly in cerebellum. Oxidative damage could be a mechanism for BDE-99 neurotoxicity in adult rats.

Liang SX, Gao HX, Zhao YY, Ma XM, Sun HW. Effects of repeated exposure to decabrominated diphenyl ether (BDE-209) on mice nervous system and its self repair. Environmental toxicology and pharmacology. 2010 ; 29(3) : 297-301.

Decabrominated diphenyl ether (BDE-209) is widely used as brominated flame retardants (BFRs). In order to investigate its direct neurotoxic effects on mice and its self repair, mice were repeatedly exposed to BDE-209. Different concentrations of BDE-209 (0, 0.1, 40, 80 and 160mg/kgbw/d) were administered daily to CD-1 Swiss mice by gavage for 15, 30 and 60 days. Body and brain weights were recorded after the exposure. And the self repair was studied. Levels of acetylcholinesterase (TchE), superoxide dismutase (SOD) and malonic dialdehyde (MDA) in brain were analyzed. Experimental results suggested that the nervous system was permanently damaged by BDE-209 through the cholinergic system enzyme.

Lilienthal HHG. Effect profiles of different brominated flame retardants in neurobehavioral and endocrine studies. Flame Retardants : Functions, Properties and Safety ; 2010. p. 157-162.

This overview summarizes neurotoxic effects of three different BFRs, polybrominated diphenyl ether (PBDE) 99, tetrabromobisphenol A (TBBPA), and hexabromocyclododecane (HBCDD). The most prominent effect of PBDE-99 was feminization of sexually dimorphic behavior in male offspring after maternal exposure. Life-time exposure to TBBPA caused elevated thresholds in brainstem auditory evoked potentials (BAEPs) in female offspring and prolonged latencies of the late wave IV in both sexes. Alteration on a test of dopamine-dependent behavior was detected in HBCDD exposed female offspring and elevated BAEP thresholds were found in exposed males. These results demonstrate that all three BFRs affect the nervous system, but they differ in their neurotoxic profiles.

Costa LG, Pellacani C, Dao K, Kavanagh TJ, Roque PJ. The brominated flame retardant BDE-47 causes oxidative stress and apoptotic cell death in vitro and in vivo in mice. *Neurotoxicology*. 2015 ; 48 : 68-76.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), used for decades as flame retardants, have become widespread environmental contaminants. Exposure is believed to occur primarily through diet and dust, and infants and toddlers have the highest body burden, raising concern for potential developmental neurotoxicity. The exact mechanisms of PBDE neurotoxicity have not been elucidated, but two relevant modes of action relate to impairment of thyroid hormone homeostasis and to direct effects on brain cells causing alterations in signal transduction, oxidative stress and apoptotic cell death. The present study shows that BDE-47 (2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether) induces oxidative stress and ensuing apoptotic cell death in mouse cerebellar granule neurons in vitro. Similarly, in vivo administration of BDE-47, according to an exposure protocol shown to induce behavioral and biochemical alterations (10mg.kg⁻¹, per os on post-natal day 10), induces oxidative stress and apoptosis, without altering serum levels of thyroid hormones. The effects of BDE-47 both in vitro and in vivo were more pronounced in a mouse model lacking the modifier subunit of glutamate cysteine ligase (GCLM) which results in reduced anti-oxidant capability due to low levels of GSH. Concentrations of BDE-47 in brain were in the mid-nanomolar range. These findings indicate that effects observed with BDE-47 in vitro are also present after in vivo administration, suggesting that in addition to potential endocrine effects, which were not seen here, direct interactions with brain cells should be considered as a potential mechanism of BDE-47 neurotoxicity.

Roberts SC, Bianco AC, Stapleton HM. Disruption of type 2 iodothyronine deiodinase activity in cultured human glial cells by polybrominated diphenyl ethers. *Chemical research in toxicology*. 2015 ; 28(6) : 1265-74.

Polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants are endocrine disruptors and suspected neurodevelopmental toxicants. While the direct mechanisms of neurodevelopmental toxicity have not been fully elucidated, it is conceivable that alterations in thyroid hormone levels in the developing brain may contribute to these effects. Cells within the brain locally convert thyroxine (T4) to the biologically active triiodothyronine (T3) through the action of the selenodeiodinase type 2 iodothyronine deiodinase (DIO2). Previous studies have demonstrated that PBDEs can alter hepatic deiodinase activity both in vitro and in vivo; however, the effects of PBDEs on the deiodinase isoforms expressed in the brain are not well understood. Here, we studied the effects of several individual PBDEs and hydroxylated metabolites (OH-BDEs) on DIO2 activity in astrocytes, a specialized glial cell responsible for production of more than 50% of the T3 required by the brain. Primary human astrocytes and H4 glioma cells were exposed to individual PBDEs or OH-BDEs at concentrations up to 5 µM. BDE-99 decreased DIO2 activity by 50% in primary astrocyte cells and by up to 80% in the H4 cells at doses of ≥500 nM. 3-OH-BDE-47, 6-OH-BDE-47, and 5'-OH-BDE-99 also decreased DIO2 activity in cultured H4 glioma cells by 45-80% at doses of approximately 1-5 µM. Multiple mechanisms appear to contribute to the decreased DIO2 activity, including weakened expression of DIO2 mRNA, competitive inhibition of DIO2, and enhanced post-translational degradation of DIO2. We conclude that decreases in DIO2 activity caused by

exposure to PBDEs may play a role in the neurodevelopmental deficits caused by these toxicants.

Roelofs MJ, van den Berg M, Bovee TF, Piersma AH, van Duursen MB. Structural bisphenol analogues differentially target steroidogenesis in murine MA-10 Leydig cells as well as the glucocorticoid receptor. *Toxicology*. 2015 ; 329 : 10-20.

Although much information on the endocrine activity of bisphenol A (BPA) is available, a proper human hazard assessment of analogues that are believed to have a less harmful toxicity profile is lacking. Here the possible effects of BPA, bisphenol F (BPF), bisphenol S (BPS), as well as the brominated structural analogue and widely used flame retardant tetrabromobisphenol A (TBBPA) on human glucocorticoid and androgen receptor (GR and AR) activation were assessed. BPA, BPF, and TBBPA showed clear GR and AR antagonism with IC_{50} values of 67 μ M, 60 μ M, and 22nM for GR, and 39 μ M, 20 μ M, and 982nM for AR, respectively, whereas BPS did not affect receptor activity. In addition, murine MA-10 Leydig cells exposed to the bisphenol analogues were assessed for changes in secreted steroid hormone levels. Testicular steroidogenesis was altered by all bisphenol analogues tested. TBBPA effects were more directed towards the male end products and induced testosterone synthesis, while BPF and BPS predominantly increased the levels of progestagens that are formed in the beginning of the steroidogenic pathway. The MA-10 Leydig cell assay shows added value over the widely used H295R steroidogenesis assay because of its fetal-like characteristics and specificity for the physiologically more relevant testicular $\delta 4$ steroidogenic pathway. Therefore, adding an in vitro assay covering fetal testicular steroidogenesis, such as the MA-10 cell line, to the panel of tests used to screen potential endocrine disruptors, is highly recommendable.

Ziemska E, Stafiej A, Toczyłowska B, Albrecht J, Lazarewicz JW. Role of Ryanodine and NMDA Receptors in Tetrabromobisphenol A-Induced Calcium Imbalance and Cytotoxicity in Primary Cultures of Rat Cerebellar Granule Cells. *Neurotoxicity research*. 2015 ; 28(3) : 195-208.

The study assessed the role of ryanodine receptors (RyRs) and NMDA receptors (NMDARs) in the Ca^{2+} transients and cytotoxicity induced in neurons by the brominated flame retardant tetrabromobisphenol A (TBBPA). Primary cultures of rat cerebellar granule cells (CGC) were exposed to 7.5, 10, or 25 μ M TBBPA for 30 min, and cell viability was assessed after 24 h. Moreover, ^{45}Ca uptake was measured, and changes in the intracellular Ca^{2+} concentration ($[Ca^{2+}]_i$) were studied using the fluo-3 probe. The involvement of NMDARs and RyRs was verified using the pertinent receptor antagonists, 0.5 μ M MK-801 and 2.5 μ M bastadin 12, which was co-applied with 200 μ M ryanodine, respectively. The results show that TBBPA concentration-dependently induces an increase in $[Ca^{2+}]_i$. This effect was partly suppressed by the inhibitors of RyRs and NMDARs when administered separately, and completely abrogated by their combined application. A concentration-dependent activation of ^{45}Ca uptake by TBBPA was prevented by MK-801 but not by RyR inhibitors. Application of ≥ 10 μ M TBBPA concentration-dependently reduced neuronal viability, and this effect was only partially and to an equal degree reduced by NMDAR and RyR antagonists given either separately or in combination. Our results directly demonstrate that both the RyR-mediated release of intracellular Ca^{2+} and the NMDAR-mediated influx of Ca^{2+} into neurons participate

in the mechanism of TBBPA-induced Ca^{2+} imbalance in CGC and play a significant, albeit not exclusive, role in the mechanisms of TBBPA cytotoxicity.

Gassmann K, Schreiber T, Dingemans MM, Krause G, Roderigo C, Giersiefer S, et al. BDE-47 and 6-OH-BDE-47 modulate calcium homeostasis in primary fetal human neural progenitor cells via ryanodine receptor-independent mechanisms. Archives of toxicology. 2014 ; 88(8) : 1537-48.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are bioaccumulating flame retardants found in rising concentrations in human tissue. Epidemiological and animal studies have raised concern for their potential to induce developmental neurotoxicity (DNT). Considering the essential role of calcium homeostasis in neurodevelopment, PBDE-induced disturbance of intracellular calcium concentration ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) may underlie PBDE-induced DNT. To test this hypothesis, we investigated acute effects of BDE-47 and 6-OH-BDE-47 on $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in human neural progenitor cells (hNPCs) and unraveled involved signaling pathways. Short-time differentiated hNPCs were exposed to BDE-47, 6-OH-BDE-47, and multiple inhibitors/stimulators of presumably involved signaling pathways to determine possible effects on $[\text{Ca}^{2+}]_i$ by single-cell microscopy with the fluorescent dye Fura-2. Initial characterization of calcium signaling pathways confirmed the early developmental stage of hNPCs. In these cells, BDE-47 (2 μM) and 6-OH-BDE-47 (0.2 μM) induce $[\text{Ca}^{2+}]_i$ transients. This increase in $[\text{Ca}^{2+}]_i$ is due to extracellular Ca^{2+} influx and intracellular release of Ca^{2+} , mainly from the endoplasmic reticulum (ER). While extracellular Ca^{2+} seems to enter the cytoplasm upon 6-OH-BDE-47 by interfering with the cell membrane and independent of Ca^{2+} ion channels, ER-derived Ca^{2+} is released following activation of protein lipase C and inositol 1,4,5-trisphosphate receptor, but independently of ryanodine receptors. These findings illustrate that immature developing hNPCs respond to low concentrations of 6-OH-BDE-47 by an increase in $[\text{Ca}^{2+}]_i$ and provide new mechanistic explanations for such BDE-induced calcium disruption. Thus, these data support the possibility of a critical window of PBDE exposure, i.e., early human brain development, which has to be acknowledged in risk assessment.

Hendriks HS, Meijer M, Muilwijk M, van den Berg M, Westerink RH. A comparison of the in vitro cyto- and neurotoxicity of brominated and halogen-free flame retardants : prioritization in search for safe(r) alternatives. Archives of toxicology. 2014 ; 88(4) : 857-69.

Brominated flame retardants (BFRs) are abundant persistent organic pollutants with well-studied toxicity. The toxicological and ecological concerns associated with BFRs argue for replacement by safe(r) alternatives. Though previous research identified the nervous system as a sensitive target organ for BFRs, the (neuro) toxic potential of alternative halogen-free flame retardants (HFFRs) is largely unknown. We therefore investigated the in vitro (neuro) toxicity of 13 HFFRs and three BFRs in dopaminergic pheochromocytoma (PC12) and neuroblastoma (B35) cells by assessing several cytotoxic and neurotoxic endpoints. Effects on cell viability and production of reactive oxygen species (ROS) were measured using a combined Alamar Blue and Neutral Red assay and a H₂-DCFDA assay, respectively, whereas effects on calcium homeostasis were measured using single-cell fluorescent Ca^{2+} -imaging. The majority of the tested flame retardants induced negligible cytotoxicity, except

zinc hydroxystannate (ZHS) and zinc stannate (ZS). A considerable fraction of flame retardants affected ROS production (decabromodiphenyl ether (BDE-209), triphenylphosphate (TPP), aluminium trihydroxide (ATH), ammonium polyphosphate (APP), magnesium hydroxide (MHO), ZHS, ZS and melamine polyphosphate (MPP)). Interestingly, ATH, ZHS, ZS and montmorillonite (MMT) increased the basal intracellular calcium concentration ($[Ca^{2+}]_i$), whereas tetrabromobisphenol A (TBBPA), resorcinol bis (diphenylphosphate) (RDP), TPP, 9,10-dihydro-9-oxa-10-phosphaphenanthrene-10-oxide (DOPO), ATH, ZHS, ZS and MMT reduced depolarization-evoked increases in $[Ca^{2+}]_i$ as a result of inhibition of voltage-gated calcium channels. These combined data on the in vitro (neuro) toxicity of HFFRs in comparison with BFRs are essential for prioritization of safe(r) flame retardants. Though additional data are required for a complete (toxic) risk assessment, our data demonstrate that several HFFRs could be suitable substitutes for BFRs.

Huang C-, Deng H, Ke X-, Han S-, He X-. Induction of human cytochrome P450 2A6 transcription by estrogenic compounds. Chin J Pharmacol Toxicol 2014 ; 28(1) : 88-96.

Objective : to develop a CYP2A6 gene transcriptional high-capacity screening system and to evaluate the regulatory effects of four environmental estrogenic compounds and three phytoestrogens on CYP2A6 gene transcription.

Methods : three luciferase reporter plasmids containing the CYP2A6 gene -2460 - +1 5'-flanking region (pGL3-2A6 UP), the potential enhancer region host estrogen response element (ERE)-like tandem in the 5' of promoter (pGL3-2A6 EP), and three copies of this ERE-like tandem in the 5' of promoter (pGL3-2A6 3EP) were constructed. Each reporter plasmid DNA was co-transfected into HepG2 cells with receptor pcDNA3.0-ER α and pRL-TK. Dual-luciferase assay was performed after 48 h treatment by different estrogenic compounds, including four environmental pollutants 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47), bisphenol (ABPA), fenvalerate (FEN), perfluorooctanoic acid (PFOA) and three phytoestrogens icariin (ICA), daidzein (DAI) and quercetin (QUE), as well as 0.1% DMSO (negative control) and 10 nmol·L⁻¹ estradiol (positive control).

Results : pGL3-2A6 3EP reporter construct represented the strongest concentration-dependent induction response to the estradiol treatment. CYP2A6 transcription activity was significantly up-regulated by all the seven estrogenic compounds. Among these chemicals, BDE-47 was of particular interest with remarkable induction fold changes from 1.45 \pm 0.13 to 3.30 \pm 0.13 ($p < 0.01$) corresponding to concentrations ranging from 1.0 to 100 nmol·L⁻¹. Phytoestrogens ICA, DAI and QUE represented a similar concentration-induction pattern. 241% to 283% increases compared with DMSO control in CYP2A6 promoter activity were observed under phytoestrogens 10 μ mol·L⁻¹ treatment.

Conclusion : CYP2A6 promoter activity is induced by estrogen and estrogenic compounds in an estrogen receptor-dependent manner, implying the biological effects of common environmental endocrine disrupting chemicals' regulation of CYP2A6 gene transcription in the human body. Furthermore, this mechanism can also explore individual nicotine metabolism and carcinogenic susceptibility under hazardous and estrogen-rich environments.

Park HR, Kamau PW, Korte C, Loch-Caruso R. Tetrabromobisphenol A activates inflammatory pathways in human first trimester extravillous trophoblasts in vitro. *Reproductive toxicology* (Elmsford, NY). 2014 ; 50 : 154-62.

Tetrabromobisphenol A (TBBPA) is a widely used flame retardant. Despite the presence of TBBPA in gestational tissues and the importance of proper regulation of inflammatory networks for successful pregnancy, there is no prior study on the effects of TBBPA on inflammatory responses in gestational tissues. The present study aimed to investigate TBBPA activation of inflammatory pathways, specifically cytokine and prostaglandin production, in the human first trimester placental cell line HTR-8/SVneo. TBBPA enhanced release of interleukin IL-6, IL-8, and prostaglandin E2 (PGE2), and suppressed TGF- β release in HTR-8/SVneo cells. The lowest effective concentration was 10 μ M TBBPA. A commercial immune response PCR array revealed increased expression of genes involved in inflammatory pathways stimulated by TBBPA in HTR-8/SVneo cells. Because proper regulation of inflammatory mediators in the gestational compartment is necessary for normal placental development and successful pregnancy, further investigation on the impact of TBBPA-stimulated responses on trophoblast function is warranted.

Song J, Li ZH, He YT, Liu CX, Sun B, Zhang CF, et al. Decabrominated diphenyl ether (BDE-209) and/or BDE-47 exposure alters protein expression in purified neural stem/progenitor cells determined by proteomics analysis. *International journal of developmental neuroscience : the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience*. 2014 ; 33 : 8-14.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are widely utilized as the additive brominated flame retardants in electronic devices, furniture, plastics, rubber foam, and textiles, which exhibit many negative biological effects, especially potential toxic effects on neurodevelopment. In the present study, we applied a proteomics approach to study the effects of decabromodiphenyl ether (BDE-209) and/or tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) on the expression of proteins extracted from neural stem/progenitor cells and further explored mechanisms on neurodevelopmental toxicity. We sub-cultured 3-4 generations of neural stem/progenitor cells which were exposed to BDE-209 and/or BDE-47. After a 72 h exposure, we applied two-dimensional gel (2-DE) to identify differentially expressed proteins and matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS) to determine the protein identity of 25 spots. Western blot analysis was applied to determine the expression of cofilin-1 and vimentin. A total of 39 differential expression protein spots were identified by 2-DE after BDE-209 and/or BDE-47 exposure in the neural stem/progenitor cells, and 19 differentially expressed proteins were identified by MALDI-TOF-MS. Western blot analysis revealed that cofilin-1 and vimentin were differentially expressed in all groups. Expression of both proteins was decreased when the neural stem/progenitor cells were exposed to BDE-209 and were absent when exposed to both BDE-47 and BDE-209. BDE-209 and/or BDE-47 might alter the expression of some proteins of neural stem/progenitor cells. Nineteen proteins were identified by MALDI-TOF-MS, which will provide a useful basis for further study of the mechanisms underlying PBDE-mediated neurotoxicity.

Su G, Letcher RJ, Crump D, Farmahin R, Giesy JP, Kennedy SW. Photolytic

degradation products of two highly brominated flame retardants cause cytotoxicity and mRNA expression alterations in chicken embryonic hepatocytes. Environmental science & technology. 2014 ; 48(20) : 12039-46

Tetradecabromo-1,4-diphenoxybenzene (TeDB-DiPhOBz) and 2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-decabromodiphenyl ether (BDE-209) are photolytically unstable flame retarding chemicals. Here, photocatalyzed byproducts of TeDB-DiPhOBz and BDE-209 (i.e Br(8)- to Br(11)-PB-DiPhOBz congeners from TeDB-DiPhOBz, and Br(6)- to Br(8)-BDE congeners from BDE-209), formed after 21 days of natural sunlight irradiation (SI), were assessed for exposure effects on cytotoxicity and mRNA expression levels of selected genes in chicken embryonic hepatocytes (CEH). CEHs were exposed for 36 h to concentrations of SI- and nonirradiated (NI)-TeDB-DiPhOBz and BDE-209. Cytotoxic effects were observed only in CEH exposed to 50 μ M SI-BDE-209. Results from a custom-designed Avian ToxChip polymerase chain reaction array showed that NI-TeDB-DiPhOBz and NI-BDE-209, up to maximum concentrations of 1.9 and 9 μ M, respectively, caused limited changes in mRNA levels of 27 genes from toxicologically relevant pathways, including phase I/II metabolism, the thyroid hormone pathway, lipid/cholesterol metabolism, oxidative stress, immune response, and cell death. In contrast, 12 and 14 of the 27 genes were altered after exposure to 25 μ M SI-TeDB-DiPhOBz or 10 μ M SI-BDE-209, respectively. Aryl hydrocarbon receptor (AhR)-related CYP1A4 mRNA levels were the most altered on the PCR array with an induction of 560- and 5200-fold after exposure to 1 or 25 μ M SI-TeDB-DiPhOBz, respectively, and 2500- and 2300-fold after exposure to 1 or 10 μ M SI-BDE-209, respectively. A dioxin-responsive luciferase reporter gene assay confirmed that the CYP1A4 inductions were independent of the dissolution solvents used (tetrahydrofuran/n-hexane, n-hexane, or methanol) during photolysis. Overall, degradation of TeDB-DiPhOBz and BDE-209 by natural sunlight generates byproducts that affect *in vitro* expression of genes, especially the AhR-mediated CYP1A4.

Molina-Molina JM, Amaya E, Grimaldi M, Saenz JM, Real M, Fernandez MF, et al. In vitro study on the agonistic and antagonistic activities of bisphenol-S and other bisphenol-A congeners and derivatives via nuclear receptors. Toxicology and applied pharmacology. 2013 ; 272(1) : 127-36.

Bisphenols are a group of chemicals structurally similar to bisphenol-A (BPA) in current use as the primary raw material in the production of polycarbonate and epoxy resins. Some bisphenols are intended to replace BPA in several industrial applications. This is the case of bisphenol-S (BPS), which has an excellent stability at high temperature and resistance to sunlight. Studies on the endocrine properties of BPS have focused on its interaction with human estrogen receptor alpha (hER α), but information on its interaction with other nuclear receptors is scarce. The aim of this study was to investigate interactions of BPS, BPF, BPA and its halogenated derivatives, tetrachlorobisphenol A (TCBPA), and tetrabromobisphenol A (TBBPA), with human estrogen receptors (hER α and hER β), androgen receptor (hAR), and pregnane X receptor (hPXR), using a panel of *in vitro* bioassays based on competitive binding to nuclear receptors (NRs), reporter gene expression, and cell proliferation assessment. BPS, BPF, and BPA efficiently activated both ERs, while TCBPA behaved as weak hER α agonist. Unlike BPF and BPA, BPS was more active in the hER β versus hER α assay. BPF and BPA were full hAR antagonists (BPA > BPF), whereas BPA and BPS were

weak hAR agonists. Only BPA, TCBPA, and TBBPA, were hPXR agonists (TCBPA > TBBPA > BPA). These findings provide evidence that BPA congeners and derivatives disrupt multiple NRs and may therefore interfere with the endocrine system. Hence, further research is needed to evaluate the potential endocrine-disrupting activity of putative BPA substitutes.

Hendriks HS, van Kleef RG, Westerink RH. Modulation of human $\alpha_4\beta_2$ nicotinic acetylcholine receptors by brominated and halogen-free flame retardants as a measure for in vitro neurotoxicity. *Toxicology letters*. 2012 ; 213(2) : 266-74.

Brominated flame retardants (BFRs) are abundant persistent organic pollutants with well-studied toxicity. The toxicological and ecological concern associated with BFRs argues for replacement by safer alternatives. However, the (neuro)toxic potential of alternative halogen-free flame retardants (HFFRs) is unknown. Previous research identified the nervous system as a sensitive target organ for BFRs, with modulation of excitatory nicotinic acetylcholine (nACh) receptors as one of the modes of action. Since it is essential to assess the (neuro)toxic potential of HFFRs before large scale use, we measured the effects of three BFRs and 13 HFFRs on the function of human $\alpha_4\beta_2$ nACh receptors, expressed in *Xenopus* oocytes, using the two-electrode voltage-clamp technique. The results demonstrate that some BFRs (TBBPA and to a lesser extent BDE-209) and HFFRs (TPP, Alpi, APP, MMT and to a lesser extent ATH, ATO, MHO, MPP, RDP and ZHS) act as nACh receptor antagonists. Contrary, BPS, BDP, DOPO and ZS were unable to modulate nACh receptors. Despite the lack of toxicological data on HFFRs and the need for additional studies to perform a full (neuro)toxic risk assessment, the current data on antagonistic effects on nACh receptors could be an important step in prioritizing viable HFFRs for substitution of BFRs.

Hendriks HS, van Kleef RG, van den Berg M, Westerink RH. Multiple novel modes of action involved in the in vitro neurotoxic effects of tetrabromobisphenol-A. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*. 2012 ; 128(1) : 235-46.

Neurotoxicological data on the widely used brominated flame retardant tetrabromobisphenol-A (TBBPA) is limited. Since recent studies indicated that inhibitory GABAA and excitatory $\alpha_4\beta_2$ nicotinic acetylcholine (nACh) receptors are sensitive targets for persistent organic pollutants, we investigated the effects of TBBPA on these receptors, expressed in *Xenopus* oocytes, using the two-electrode voltage-clamp technique. Our results demonstrate that TBBPA acts as full ($\geq 10 \mu\text{M}$) and partial ($\geq 0.1 \mu\text{M}$) agonist on human GABAA receptors, whereas it acts as antagonist ($\geq 10 \mu\text{M}$) on human $\alpha_4\beta_2$ nACh receptors. Next, neuronal B35 cells were used to further study the effects of TBBPA on calcium-permeable nACh receptors using single-cell fluorescent calcium imaging. These results demonstrate that TBBPA ($\geq 1 \mu\text{M}$) inhibits acetylcholine (ACh) receptors as evidenced by a reduction in the ACh-evoked increases in the intracellular calcium concentration $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Additionally, TBBPA ($> 1 \mu\text{M}$) induced a strong and concentration-dependent increase in basal $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in B35 cells. Similarly, TBBPA ($> 1 \mu\text{M}$) increases basal $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in dopaminergic PC12 cells. This increase is also evident under calcium-free conditions, indicating it originates from intracellular calcium stores. Moreover, depolarization-evoked increases in $[\text{Ca}^{2+}]_i$ are strongly reduced by TBBPA ($\geq 1 \mu\text{M}$), indicating TBBPA-induced inhibition of voltage-gated calcium channels. Our in vitro studies thus demonstrate that TBBPA exerts several adverse effects on functional

neurotransmission endpoints with effect concentrations that are only two orders of magnitude below the highest cord serum concentrations. Although epidemiological proof for adverse TBBPA effects is lacking, our data justify the quest for flame retardants with reduced neurotoxic potential.

Woods R, Vallero RO, Golub MS, Suarez JK, Ta TA, Yasui DH, et al. Long-lived epigenetic interactions between perinatal PBDE exposure and Mecp2308 mutation. Human molecular genetics. 2012 ; 21(11) : 2399-411.

The widespread use of persistent organic polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) as commercial flame retardants has raised concern about potential long-lived effects on human health. Epigenetic mechanisms, such as DNA methylation, are responsive to environmental influences and have long-lasting consequences. Autism spectrum disorders (ASDs) have complex neurodevelopmental origins whereby both genetic and environmental factors are implicated. Rett syndrome is an X-linked ASD caused by mutations in the epigenetic factor methyl-CpG binding protein 2 (MECP2). In this study, an Mecp2 truncation mutant mouse (Mecp2(308)) with social behavioral defects was used to explore the long-lasting effects of PBDE exposure in a genetically and epigenetically susceptible model. Mecp2(308/+) dams were perinatally exposed daily to 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether 47 (BDE-47) and bred to wild-type C57BL/6J males, and the offspring of each sex and genotype were examined for developmental, behavioral and epigenetic outcomes. Perinatal BDE-47 exposure negatively impacted fertility of Mecp2(308/+) dams and preweaning weights of females. Global hypomethylation of adult brain DNA was observed specifically in female offspring perinatally exposed to BDE-47 and it coincided with reduced sociability in a genotype-independent manner. A reversing interaction of Mecp2 genotype on BDE-47 exposure was observed in a short-term memory test of social novelty that corresponded to increased Dnmt3a levels specifically in BDE-47-exposed Mecp2(308/+) offspring. In contrast, learning and long-term memory in the Morris water maze was impaired by BDE-47 exposure in female Mecp2(308/+) offspring. These results demonstrate that a genetic and environmental interaction relevant to social and cognitive behaviors shows sexual dimorphism, epigenetic dysregulation, compensatory molecular mechanisms and specific behavioral deficits.

Dishaw LV, Powers CM, Ryde IT, Roberts SC, Seidler FJ, Slotkin TA, et al. Is the Penta-BDE replacement, tris (1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCPP), a developmental neurotoxicant ? Studies in PC12 cells. Toxicology and applied pharmacology. 2011 ; 256(3) : 281-9.

Organophosphate flame retardants (OPFRs) are used as replacements for the commercial Penta-BDE mixture that was phased out in 2004. OPFRs are ubiquitous in the environment and detected at high concentrations in residential dust, suggesting widespread human exposure. OPFRs are structurally similar to neurotoxic organophosphate pesticides, raising concerns about exposure and toxicity to humans. This study evaluated the neurotoxicity of tris (1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCPP) compared to the organophosphate pesticide, chlorpyrifos (CPF), a known developmental neurotoxicant. We also tested the neurotoxicity of three structurally similar OPFRs, tris (2-chloroethyl) phosphate (TCEP), tris (1-chloropropyl) phosphate (TCPP), and tris (2,3-dibromopropyl) phosphate (TDBPP), and 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47), a major component of Penta-BDE. Using

undifferentiated and differentiating PC12 cells, changes in DNA synthesis, oxidative stress, differentiation into dopaminergic or cholinergic neurophenotypes, cell number, cell growth and neurite growth were assessed. TDCPP displayed concentration-dependent neurotoxicity, often with effects equivalent to or greater than equimolar concentrations of CPF. TDCPP inhibited DNA synthesis, and all OPFRs decreased cell number and altered neurodifferentiation. Although TDCPP elevated oxidative stress, there was no adverse effect on cell viability or growth. TDCPP and TDBPP promoted differentiation into both neuronal phenotypes, while TCEP and TCPP promoted only the cholinergic phenotype. BDE-47 had no effect on cell number, cell growth or neurite growth. Our results demonstrate that different OPFRs show divergent effects on neurodifferentiation, suggesting the participation of multiple mechanisms of toxicity. Additionally, these data suggest that OPFRs may affect neurodevelopment with similar or greater potency compared to known and suspected neurotoxicants.

Kim KH, Bose DD, Ghogha A, Riehl J, Zhang R, Barnhart CD, et al. Para- and ortho-substitutions are key determinants of polybrominated diphenyl ether activity toward ryanodine receptors and neurotoxicity. Environmental health perspectives. 2011 ; 119(4) : 519-26.

Background : polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are widely used flame retardants that bioaccumulate in human tissues. Their neurotoxicity involves dysregulation of calcium ion (Ca^{2+}) signaling; however, specific mechanisms have yet to be defined.

Objective : we aimed to define the structure-activity relationship (SAR) for PBDEs and their metabolites toward ryanodine receptors type 1 (RyR1) and type 2 (RyR2) and to determine whether it predicts neurotoxicity.

Methods : we analyzed [^3H]ryanodine binding, microsomal Ca^{2+} fluxes, cellular measurements of Ca^{2+} homeostasis, and neurotoxicity to define mechanisms and specificity of PBDE-mediated Ca^{2+} dysregulation.

Results : PBDEs possessing two ortho-bromine substituents and lacking at least one para-bromine substituent (e.g., BDE-49) activate RyR1 and RyR2 with greater efficacy than corresponding congeners with two para-bromine substitutions (e.g., BDE-47). Addition of a methoxy group in the free para position reduces the activity of parent PBDEs. The hydroxylated BDEs 6-OH-BDE-47 and 4'-OH-BDE-49 are biphasic RyR modulators. Pretreatment of HEK293 cells (derived from human embryonic kidney cells) expressing either RyR1 or RyR2 with BDE-49 (250 nM) sensitized Ca^{2+} flux triggered by RyR agonists, whereas BDE-47 (250 nM) had negligible activity. The divergent activity of BDE-49, BDE-47, and 6-OH-BDE-47 toward RyRs predicted neurotoxicity in cultures of cortical neurons.

Conclusions : we found that PBDEs are potent modulators of RyR1 and RyR2. A stringent SAR at the ortho and para position determined whether a congener enhanced, inhibited, or

exerted nonmonotonic actions toward RyRs. These results identify a convergent molecular target of PBDEs previously identified for noncoplanar polychlorinated biphenyls (PCBs) that predicts their cellular neurotoxicity and therefore could be a useful tool in risk assessment of PBDEs and related compounds.

Hu W, Liu H, Sun H, Shen O, Wang X, Lam MH, et al. Endocrine effects of methoxylated brominated diphenyl ethers in three in vitro models. Marine pollution bulletin. 2011 ; 62(11) : 2356-61.

Methoxylated brominated diphenyl ethers (MeO-BDEs) in aquatic environments have been found to be primarily of natural origin in the marine environment and not from biotransformation of synthetic PBDEs. Two of the eight MeO-PBDEs (2'-MeO-BDE-68 and 6-MeO-BDE-47) that were detected in anchovy from the Yangtze River Delta, were natural products from marine organisms. So 2'-MeO-BDE-68 and 6-MeO-BDE-47 were chosen to study the potential to modulate androgen, estrogen, or thyroid hormone receptor- (AR, ER, ThR) mediated responses by use of reporter gene assays. 2'-MeO-BDE-68 was antiandrogenic at 50 μ M, estrogenic at 10 μ M and antiestrogenic at 10 and 50 μ M (IC_{50} = 4.88 μ M). 2'-MeO-BDE-68 enhanced luciferase expression by 5 nM T3 at 50 μ M. 6-MeO-BDE-47 exhibited potent antiandrogenicity at 1 μ M and greater (IC_{50} = 41.8 μ M) and possessed estrogenic activity at 10 μ M and antiestrogenic activity at 10 and 50 μ M (IC_{50} = 6.02 μ M).

Ibhazehiebo K, Iwasaki T, Xu M, Shimokawa N, Koibuchi N. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) ameliorates the suppression of thyroid hormone-induced granule cell neurite extension by hexabromocyclododecane (HBCDD). Neuroscience letters. 2011 ; 493(1-2) : 1-7.

Thyroid hormone (TH) plays an essential role in growth and differentiation of the central nervous system. Deficiency of TH during perinatal period results in abnormal brain development known as cretinism in human. We recently reported that an environmental chemical 1,2,5,6,9,10- α -hexabromocyclododecane (HBCDD) suppressed TH receptor (TR)-mediated transcription. To examine the effect of HBCDD on cerebellar granule cells, we used purified rat cerebellar granule cells in reaggregate culture. Low dose HBCDD (10⁻¹⁰ M) significantly suppressed TH-induced neurite extension of granule cell aggregate. To clarify further the mechanisms of such suppression, we added brain-derived neurotrophic factor (BDNF) into culture medium, since BDNF plays a critical role in promoting granule cell development and is regulated by TH. BDNF completely rescued HBCDD-induced suppression of granule cell neurite extension in the presence of T3. These results indicate that HBCDD may disrupt TH-mediated brain development at least in part due to a disruption of the T3 stimulated increase in BDNF and BDNF may possess ability to ameliorate the effect of HBCDD in granule cells.

Christen V, Crettaz P, Oberli-Schrammli A, Fent K. Some flame retardants and the antimicrobials triclosan and triclocarban enhance the androgenic activity in vitro.

Chemosphere. 2010 ; 81(10) : 1245-52.

Contaminants including flame retardants, antimicrobial agents and phthalates, occurring as residues in human tissues were associated with altered endocrine function. In our study we analysed the flame retardants tetrabromobisphenol A (TBBPA), hexabromocyclodecane (HBCDD), penta-bromodiphenylether (BDE-100) and hexa-BDE (BDE-155), the antimicrobial compounds triclosan (TCS) and triclocarban (TCC) and eight phthalates for their androgenic and antiandrogenic activity in vitro in the MDA-kb2 cell line. No or only weak androgenic activity was observed for all the tested compounds. TBBPA showed weak antiandrogenic activity, which was demonstrated for the first time. The flame retardants HBCDD, BDE-100 and BDE-155 enhanced the dihydrotestosterone-dependent activation of androgen receptor-responsive gene expression but exhibited little or no agonistic activity. The enhancement reached 150%, which was similar to the antimicrobials (TCS up to 180%, and TCC up to 130%). This enhancement of androgenic activity represents a novel mode of action of the endocrine activity of flame retardants. In contrast, most phthalates showed antiandrogenic activity. Butylbenzyl phthalate (BBP), dibutyl phthalate (DBP) and diethyl phthalate (DEP) showed strong antiandrogenicity, whereas the action of diethylhexyl phthalate (DEHP), dipentyl phthalate (DPP), dimethyl phthalate (DMP), and the DEHP metabolite monoethylhexyl phthalate (MEHP) was lower. Our in vitro study demonstrates for the first time a weak antiandrogenic activity of TBBPA, and a significant enhancement of the androgenic activity of HBCDD, BDE-100 and BDE-155, which represents a novel mechanism of hormonal activity of flame retardants.

Schreiber T, Gassmann K, Gotz C, Hubenthal U, Moors M, Krause G, et al. Polybrominated diphenyl ethers induce developmental neurotoxicity in a human in vitro model : evidence for endocrine disruption. Environmental health perspectives. 2010 ; 118(4) : 572-8

Background : polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are persistent and bioaccumulative flame retardants, which are found in rising concentrations in human tissues. They are of concern for human health because animal studies have shown that they possess the potential to be developmentally neurotoxic.

Objective : because there is little knowledge of the effects of PBDEs on human brain cells, we investigated their toxic potential for human neural development in vitro. Moreover, we studied the involvement of thyroid hormone (TH) disruption in the effects caused by PBDEs.

Methods : we used the two PBDE congeners BDE-47 and BDE-99 (0.1-10 microM), which are most prominent in human tissues. As a model of neural development, we employed primary fetal human neural progenitor cells (hNPCs), which are cultured as neurospheres and mimic basic processes of brain development *in vitro*: proliferation, migration, and differentiation.

Results : PBDEs do not disturb hNPC proliferation but decrease migration distance of hNPCs. Moreover, they cause a reduction of differentiation into neurons and

oligodendrocytes. Simultaneous exposure with the TH receptor (THR) agonist triiodothyronine rescues these effects on migration and differentiation, whereas the THR antagonist NH-3 does not exert an additive effect.

Conclusion : PBDEs disturb development of hNPCs in vitro via endocrine disruption of cellular TH signaling at concentrations that might be of relevance for human exposure.

Suvorov A, Takser L. Global gene expression analysis in the livers of rat offspring perinatally exposed to low doses of 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether. Environmental health perspectives. 2010 ; 118(1) : 97-102.

Background : polybrominated diphenyl ethers are a group of flame-retardant chemicals appearing increasingly in the environment. Their health effects and mechanisms of toxicity are poorly understood.

Objectives : we screened for the sensitive effects and mechanisms of toxicity of 2,2',4,4' - tetra-bromodiphenyl ether (BDE-47) by analyzing the gene expression profile in rats exposed to doses comparable to human exposure.

Methods : wistar dams were exposed to vehicle or BDE-47 (0.002 and 0.2 mg.kg⁻¹ body weight) every fifth day from gestation day 15 to postnatal day 20 by injections to caudal vein. Total RNA was extracted from the livers of pups and hybridized to the whole-genome RNA expression micro-arrays. The list of genes 2-fold differentially expressed was exported to PANTHER and Ingenuity Systems for analysis of enriched ontology groups and molecular pathways.

Results : oxidoreductase and transferase protein families were enriched in exposed rats as were these biological process categories : carbohydrate metabolism; electron transport; and lipid, fatty acid, and steroid metabolism. Four signaling pathways (cascades of activation of drug-metabolizing enzymes) and 10 metabolic pathways were significantly enriched. Drug-metabolizing enzymes appear to be regulated by BDE-47 through an aryl hydrocarbon receptor-independent mechanism. Direct interaction with retinoid X receptor or its upstream cascade may be involved. The main metabolic effects consisted of activation of metabolic pathways: alpha- and omega-oxidation of fatty acids, glycolysis, and starch hydrolysis.

Conclusions: altered expression of genes involved in metabolic and signaling pathways and functions of the organism occurs after perinatal exposure of rat offspring to BDE-47 at doses relevant for the general population.

Zhang C, Liu X, Chen D. Role of brominated diphenyl ether-209 in the differentiation of

neural stem cells in vitro. International journal of developmental neuroscience : the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience. 2010 ; 28(6) : 497-502.

The congener brominated diphenyl ether-209 (BDE-209) is a high-bromine polybrominated diphenyl ether (PBDE) and a common flame retardant that is applied to electronic equipment. In this study, we investigated the effects of BDE-209 on the regulation of proliferation and apoptosis of neural stem cells (NSCs) and determined the underlying protein alterations. We cultured NSCs and exposed them to different BDE-209 concentrations to assess the effects of BDE-209 on cell proliferation. Flow cytometric assays were used to assess the effects of BDE-209 on apoptosis and to determine the underlying mechanisms. The expression levels of nuclear factor kappa B (NF- κ B), apoptotic-associated protein cleaved caspase-3 and caspase-3, phosphorylated extracellular signal-regulated kinase (ERK) and c-Jun N-terminal protein kinase (JNK) were analyzed by western blot assays. Our data indicated that BDE-209 decreased NSC proliferation in a concentration-dependent manner. BDE-209 induced the activation of NF- κ B; however, the expression levels of phosphorylated JNK1/2 (p-JNK1/2) and phosphorylated ERK1/2 (p-ERK1/2) were not altered. Furthermore, BDE-209 increased apoptosis and protein levels of cleaved caspase 3, whereas the NF- κ B inhibitor pyrrolidine dithiocarbamate (PDTTC) attenuated BDE-209-induced apoptosis. In conclusion, BDE-209 inhibits NSC proliferation in vitro, and BDE-209 is able to induce apoptosis, which may be associated with the activation of NF- κ B pathways.

Lopez-Espinosa MJ, Costa O, Vizcaino E, Murcia M, Fernandez-Somoano A, Iniguez C, et al. Prenatal Exposure to Polybrominated Flame Retardants and Fetal Growth in the INMA Cohort (Spain). Environmental science & technology. 2015 ; 49(16) : 10108-16.

Our aim was to investigate the relation between PBDEs and fetal growth or newborn anthropometry in a Spanish cohort (2003-2008). PBDE congeners (BDE-47, 99, 153, 154, and 209) were determined in serum of 670 mothers at gestational week 12 and in 534 umbilical cord samples. Abdominal circumference (AC), estimated fetal weight (EFW), femur length (FL), and biparietal diameter (BPD) during gestation were measured by ultrasounds. At birth, weight (BW), head circumference (HC), and length (BL) were also measured. We assessed growth in the intervals between 12-20 and 20-34 weeks of gestation and size at birth by standard deviation (SD)-scores adjusted for constitutional characteristics. We conducted multivariate linear regression analyses between PBDE congeners and their sum (Σ PBDEs) and outcomes. We found statistically significant inverse associations between Σ PBDEs and AC, EFW, and BPD at weeks 20-34 and HC at birth. Regarding congeners, the association was clearer with BDE-99, with inverse associations being found with AC, EFW, and BPD at weeks 20-34, and with BW and HC at delivery. These outcomes decreased between 1.3% and 3.5% for each 2-fold PBDE increase. Concerning matrices, we found statistically significant inverse associations with BPD, HC, and BW when using maternal serum, and for AC and EFW with cord serum. In conclusion, PBDEs may impair fetal growth in late pregnancy and reduce birth size.

Rasinger JD, Carroll TS, Lundebye AK, Hogstrand C. Cross-omics gene and protein expression profiling in juvenile female mice highlights disruption of calcium and zinc

signalling in the brain following dietary exposure to CB-153, BDE-47, HBCDD or TCDD. Toxicology. 2014 ; 321 : 1-12.

The present study assessed if eating a diet of fish, spiked with persistent organic pollutants (POPs), affects gene and protein expression in the maturing mouse brain. Juvenile female Balb/c mice (22 days of age) were exposed for 28 days to fish-based diets spiked with the dioxin 2,3,7,8-tetrachlorodibenzodioxin (TCDD) or the non dioxin-like (NDL) chemicals hexabromocyclododecane (HBCDD), 2,2',4,4'-tetrabromodiphenylether (BDE-47) or 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (CB-153) at doses approximating their respective lowest observed adverse effect levels (LOAEL). It was found that all POPs elicited changes in neural gene and protein expression profiles. Bioinformatic analysis of gene expression data highlighted the importance of the aryl hydrocarbon receptor (AHR) in dioxin toxicity and revealed that zinc regulation in the brain is targeted by TCDD through the AHR. Calcium homeostasis was affected by both TCDD and the NDL chemicals. In contrast to the transcriptomic analysis, the proteomics data did not allow for a clear distinction between DL and NDL responses in the juvenile brain but indicated that proteins associated with excitotoxicity were affected in all exposure groups. Integrated interpretation of data led to the conclusion that the dietary contaminants investigated in the present study breach the blood brain barrier (BBB) and accumulate in the juvenile brain where they may induce excitotoxic insults by dysregulation of the otherwise tightly controlled homeostasis of calcium and zinc. Overall, the findings of the present study highlight the need for further assessment of the risks associated with early life exposure to foodborne POPs.

Curcic M, Tanaskovic S, Stankovic S, Jankovic S, Antunovic M, Djordjevic S, et al. Relationship of hepatotoxicity and the target tissue dose of decabrominated diphenyl ether in subacutely exposed Wistar rats. Vojnosanitetski preglod. 2015 ; 72(5) : 405-13.

Background/Aim : based on numerous studies in animals, the most prominent toxic effects of decabrominated diphenyl ether (BDE-209) are observed in the liver, thyroid hormone homeostasis, reproductive and nervous systems. BDE-209 exhibits its toxic effects partly through the aryl hydrocarbon (Ah) receptor and consequent induction of hepatic microsomal enzymes. The aim of this study was to assess the hepatotoxic effect vs target tissue dose of BDE-209 in the subacutely orally exposed Wistar rats.

Methods : effects were examined on male Wistar rats, weighing 200-240 g, exposed to doses of 1,000, 2,000 or 4,000 mg BDE-209.kg⁻¹ body weight (bw)/day by gavage during 28 days. Animals were treated according to the decision of the Ethics Committee of the Military Medical Academy, No 9667-1/2011. Evaluation of the hepatotoxic effect was based on : relative liver weight water and food intake, biochemical parameters of liver function [aspartate amino transferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), gama glutamyl transferase (γ -GT)], and oxidative stress parameters in liver homogenates [malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), -SH] and morphological and pathohistological changes in the liver. For the assessment of internal dose-response relationship, lower confidence limit of Benchmark dose (BMDL) of 5% or 10% i.e. BMDL5 or BMDL10, were calculated using PROAST software.

Results : after the application of 1,000,2,000 or 4,000 mg BDE-209.kg⁻¹ bw/day, the concentrations of BDE-209 measured in liver were 0.269, 0.569 and 0.859 mg.kg⁻¹ of liver wet weight, (ww) respectively. Internal doses correlated with external ($r = 0.972$; $p < 0.05$) according to equation: internal dose (mg BDE-209.kg⁻¹ of liver ww) = $0.0002 \times$ external dose (mg.kg⁻¹ bw/day) + 0.0622. Hepatotoxicity was demonstrated based on significant increase in AST and γ -GT activities and the degree of histopathological changes. The lowest BMDLs of 0.07228 mg BDE-209.kg⁻¹ of liver ww, correlating to external dose of 39 mg/kg/day, indicated the increase of AST activity as the most sensitive biomarker of BDE-209 hepatotoxicity in subacutely exposed rats.

Conclusion : the results of the present work add up to the issue of BDE-209 toxicity profile with a focus on relationship between internal dose and hepatotoxicity. Critical internal dose for the effect on AST of 0.07 mg.kg⁻¹ of liver ww, corresponding to external dose of 39 mg/kg/day, is the lowest dose ever observed among the studies on BDE-209 hepatotoxicity. For the persistent substances with low absorption rate such as BDE-209, critical effect based on internal dose in majority of cases is considered as more precisely defined than the effect established based on external dose, particularly.

Sueyoshi T, Li L, Wang H, Moore R, Kodavanti PR, Lehmler HJ, et al. Flame retardant BDE-47 effectively activates nuclear receptor CAR in human primary hepatocytes. Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology. 2014 ; 137(2) : 292-302.

Polybrominated diphenyl ether BDE-47 (2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether) is a thyroid hormone disruptor in mice; hepatic induction of various metabolic enzymes and transporters has been suggested as the mechanism for this disruption. Utilizing Car (-/-) and Pxr (-/-) mice as well as human primary hepatocytes, here we have demonstrated that BDE-47 activated both mouse and human nuclear receptor constitutive activated/androstane receptor (CAR). In mouse livers, CAR, not PXR, was responsible for CYP2B10 mRNA induction by BDE-47. In human primary hepatocytes, BDE-47 was able to induce translocation of YFP-tagged human CAR from the cytoplasm to the nucleus and CYP2B6 and CYP3A4 mRNAs expressions. BDE-47 activated human CAR in a manner akin to the human CAR ligand CITCO (6-(4-Chlorophenyl)imidazo[2,1-b][1,3]thiazole-5-carbaldehyde-O-(3,4-dichlorobenzyl)oxime) in luciferase-reporter assays using Huh-7 cells. In contrast, mouse CAR was not potently activated by BDE-47 in the same reporter assays. Furthermore, human pregnane X receptor (PXR) was effectively activated by BDE-47 while mouse PXR was weakly activated in luciferase-reporter assays. Our results indicate that BDE-47 induces CYP genes through activation of human CAR in addition to the previously identified pathway through human PXR.

Maranghi F, Tassinari R, Moracci G, Altieri I, Rasinger JD, Carroll TS, et al. Dietary exposure of juvenile female mice to polyhalogenated seafood contaminants (HBCDD, BDE-47, PCB-153, TCDD) : comparative assessment of effects in potential target

tissues. Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association. 2013 ; 56 : 443-9.

Fish represents source of nutrients and major dietary vehicle of lipophilic persistent contaminants. The study compared the effects of two legacy and two emerging fish pollutants (Hexabromocyclododecane HBCDD; 2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl ether BDE-47; 2,2',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl PCB-153; 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin TCDD) in juvenile female mice exposed through a salmon based rodent diet for 28 days (dietary doses : HBCDD 199 mg.kg⁻¹ bw/day; BDE-47 450 µg.kg⁻¹ bw/day; PCB-153 195 µg.kg⁻¹ bw/day; TCDD 90 ng.kg⁻¹ bw/day). Dose levels were comparable to previously reported developmental Lowest Observed Adverse Effect Levels. None of the treatments elicited signs of overt toxicity, but HBCDD increased relative liver weight. All compounds caused changes in liver, thymus and thyroid; spleen was affected by BDE-47 and PCB-153 ; no effects were seen in uterus and adrenals. Strongest effects in thyroid follicles were elicited by PCB-153, in thymus and liver by BDE-47. HBCDD and BDE-47 induced liver fatty changes, but appeared to be less potent in the other tissues. HBCDD, BDE-47 and TCDD increased serum testosterone levels and the testosterone/estradiol ratio, suggesting a potential involvement of pathways related to sex steroid biosynthesis and/or metabolism. The results support the role of toxicological studies on juvenile rodents in the hazard characterization of chemicals, due to endocrine and/or immune effects.

Choi JS, Lee YJ, Kim TH, Lim HJ, Ahn MY, Kwack SJ, et al. Molecular Mechanism of Tetrabromobisphenol A (TBBPA)-induced Target Organ Toxicity in Sprague-Dawley Male Rats. Toxicological research. 2011 ; 27(2) : 61-70.

Brominated flame retardants (BFRs) are present in many consumer products ranging from fabrics to plastics and electronics. Wide use of flame retardants can pose an environmental hazard, which makes it important to determine the mechanism of their toxicity. In the present study, dose-dependent toxicity of tetrabromobisphenol A (TBBPA), a flame retardant, was examined in male prepubertal rats (postnatal day 18) treated orally with TBBPA at 0, 125, 250 or 500 mg.kg⁻¹ for 30 days. There were no differences in body weight gain between the control and TBBPA-treated groups. However, absolute and relative liver weights were significantly increased in high dose of TBBPA-treated groups. TBBPA treatment led to significant induction of CYP2B1 and constitutive androstane receptor (CAR) expression in the liver. In addition, serum thyroxin (T4) concentration was significantly reduced in the TBBPA treated group. These results indicate that repeated exposure to TBBPA induces drug-metabolising enzymes in rats through the CAR signaling pathway. In particular, TBBPA efficiently produced reactive oxygen species (ROS) through CYP2B1 induction in rats. We measured 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG), a biomarker of DNA oxidative damage, in the kidney, liver and testes of rats following TBBPA treatment. As expected, TBBPA strongly induced the production of 8-OHdG in the testis and kidney. These observations suggest that TBBPA-induced target organ toxicity may be due to ROS produced by metabolism of TBBPA in Sprague- Dawley rats.

Lee E, Kim TH, Choi JS, Nabanata P, Kim NY, Ahn MY, et al. Evaluation of liver and thyroid toxicity in Sprague-Dawley rats after exposure to polybrominated diphenyl ether BDE-209. The Journal of toxicological sciences. 2010 ; 35(4) : 535-45.

Our goal in the present study was to evaluate whether decabromodiphenyl ether (BDE-209), which is the most abundant polybrominated diphenyl ether (PBDE) found in human samples, affects against target organs. Sprague-Dawley male rats were exposed to vehicle or BDE-209 (100, 300, or 600 mg.kg⁻¹ body weight, daily) from postnatal day (PND) 10 to PND 42. There was no significant difference in body and male reproductive organ weight changes compared with controls. However, liver, thyroid and adrenal gland weights were significantly increased in the high-dose of BDE-209 group. BDE-209 significantly induced the expression of cytochrome P450 (CYP1A2, CYP3A1, and CYP2B1) enzymes in the liver. Furthermore, constitutive androstane receptor (CAR) and pregnane xenobiotic receptor (PXR) expression levels were also increased in a dose-dependent manner. Total serum triiodothyronine (T3) concentration was significantly reduced in a dose-dependent manner, whereas the level of thyroid-stimulating hormone was significantly increased with BDE-209 treatment. In the histological findings, multiple areas of degenerated follicular epithelium and slight attenuation of the follicular epithelium were observed in the thyroid glands by high doses (300 and 600 mg.kg⁻¹) of BDE-209 treatment. The presence of hepatocytic fatty degeneration and inflammatory foci were also observed in the 300 and 600 mg.kg⁻¹ of BDE-209 group. These findings demonstrate that BDE-209 induces hyperthyroidism and hepatotoxicity. In the future, further research is needed to determine the relationship between target organ toxicity and blood concentrations of BDE-209.

Brasseur C, Pirard C, Scholl G, De Pauw E, Viel JF, Shen L, et al. Levels of dechloranes and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in human serum from France. Environment international. 2014 ; 65 : 33-40.

Human exposure to dechloranes has been evaluated in Western Europe (France) with the analysis of Dechlorane Plus (DP), Dechloranes (Dec) 602, 603 and 604, Chlordene Plus (CP) and Mirex in 48 serum samples collected between 2003 and 2005. While no production source has been identified in Europe until now, detection frequencies for all investigated dechloranes were high, except for Dec 604 which was below detection limit for all samples. The mean DP concentration was 1.40 ± 1.40 ng/g lipid weight (lw), lower than levels reported in serum from Chinese population, but higher than levels reported in Canadian human milk. To the best of our knowledge, this is the first time that ∑5dechlorane levels are reported for human serum. A specific pattern of contamination was found (Dec 603 > DP > Mirex > Dec 602 > CP) compared to other biota samples that have been analyzed from Europe, with Dec 603 as the most abundant dechlorane (mean level : 2.61 ± 2.63 ng/g lw). Dec 603 and CP levels were correlated with age and with levels of some bioaccumulative organochlorine pesticides (OCPs). These results indicate that bioaccumulation properties should be further investigated and taken in consideration when assessing human exposure to dechloranes. For comparison purposes, polybrominated diphenyl ether (PBDE) levels were also measured for BDE-47, 99, 100, 153 and 154 in the serum samples. As expected, BDE-47 and BDE-153 were the major congeners with mean levels of 2.06 ± 1.80 ng/g lw and 1.39 ± 0.97 ng/g lw, respectively. The mean ∑5PBDE levels (4.32 ± 2.99 ng/g lw) were in the range typical of

Western Europe levels, but lower than the mean Σ 5dechlorane levels (6.24 ± 4.16 ng/g lw). These results indicate that the attention to dechloranes should be continued if research indicates toxicological concerns.

Darnerud PO, Lignell S, Aune M, Isaksson M, Cantillana T, Redeby J, et al. Time trends of polybrominated diphenylether (PBDE) congeners in serum of Swedish mothers and comparisons to breast milk data. *Environmental research*. 2015 ; 138 : 352-60.

In the present study our main focus was blood serum levels and time trends of the fully brominated diphenyl ether (PBDE) BDE-209 in Swedish first-time mothers, as relatively a few human data on this congener are currently available. Also, levels and temporal trends in serum of other more commonly reported PBDE congeners and HBCDD were studied. In an ongoing study on POPs in Uppsala Primiparas (POPUP), serum samples (N = 413) from first-time mothers from 1996 to 2010 were used. Pooling of individual samples (5-25 individuals/pool, approx. 3 pools/year) resulted in 36 pooled samples used for PBDE/HBCDD analysis on GC-LRMS. In addition, serum/breast milk correlations for PBDE and HBCDD levels in 30 paired samples from individual mothers sampled 2010 were studied. The mean serum level of BDE-209 (1.3 ng/g lipid wt.) was highest of all studied PBDE congeners, followed by BDE-47 and BDE-153. There was no significant temporal trend for BDE-209 during the study period, whereas the levels of BDE-47, BDE-99, BDE-100 and of HBCDD decreased significantly in pooled serum 1996-2010. After omission of one outlier, a significant increasing trend was observed for BDE-153. The serum/milk PBDE quotients in paired individual samples from 2010 ranged from 0.83 to 17, with the highest quotient for BDE-209. Differences in PBDE transfer from blood to milk are probably related to molecular weight or size. The correlations between serum and milk levels of tetra- to hexa-brominated congeners were generally strong ($r = 0.83-0.97$), but weaker for BDE-183 ($r = 0.57$) and BDE-209 ($r = 0.38$). Regarding HBCDD, serum levels in 2010 were mostly beneath LOQ which made serum/milk quotients impossible. The decreasing levels of some BFR compounds in serum over time show that exposures have decreased after the production and use of some of these substances have been restricted. The lack of temporal trend of BDE-209 suggests that the human exposure to this congener in Sweden has been stable for more than a decade.

Sahlstrom LM, Sellstrom U, de Wit CA, Lignell S, Darnerud PO. Brominated flame retardants in matched serum samples from Swedish first-time mothers and their toddlers. *Environmental science & technology*. 2014 ; 48(13) : 7584-92.

Tri-decabrominated diphenyl ethers and 21 other flame retardants were determined in matched serum samples from 24 Swedish mothers (Uppsala county) and their toddlers (11-15 months of age). The median concentrations of individual polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) ranged from 0.036 to 0.95 ng/g lipid in mothers and from 0.057 to 1.5 ng/g lipid in toddlers. BDE-209 was detected in all but one sample. BDE-153 was the predominant congener in the mothers while in toddlers, BDE-209 was found in the highest concentrations. The levels of BDE-47, 100, 207, 208, and 209 in toddlers were significantly higher ($p < 0.05$) than those in their mothers. Dechlorane Plus (anti- and syn-) and α - and β -tetrabromoethylcyclohexane were detected in a few (2-4) serum samples from both mothers

and toddlers. This study also reports concentrations of α -HBCDD and eight emerging brominated flame retardants (EBFRs) in the standard reference material serum (SRM 1958, NIST). Lack of correlations between the matched serum samples indicate different exposure routes for octa-deca-BDEs in mothers versus toddlers. Congener-to-congener correlations within the mother or toddler cohorts suggest diet as an important exposure pathway for tetra-nona-BDEs for mothers, breastfeeding as a predominant exposure pathway for tetra-hexa-BDEs, and dust for octa-deca-BDEs for toddlers.

Lenters V, Thomsen C, Smit LA, Jonsson BA, Pedersen HS, Ludwicki JK, et al. Serum concentrations of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and a polybrominated biphenyl (PBB) in men from Greenland, Poland and Ukraine. *Environment international*. 2013 ; 61 : 8-16

Many brominated flame retardants (BFRs)-including polybrominated diphenyl ethers (PBDEs)-have been shown to persist in the environment, and some have been associated with adverse health effects. The aim of the present study was to quantify serum concentrations of common brominated flame retardants in Inuit men from across Greenland, and in men from Warsaw, Poland and Kharkiv, Ukraine. Serum was sampled between 2002 and 2004 from men 19 to 50 years of age. 299 samples were analyzed for BDE-28, 47, 99, 100, 153, 154 and 183 and the brominated biphenyl BB-153 using gas chromatography-high resolution mass spectrometry. BDE-47 and BDE-153 were detected in more than 95% of samples from all three populations. All other congeners, except BDE-154, were detected in more than 70% of samples from Greenland; lower detection frequencies were observed in Polish and Ukrainian samples. Concentrations of individual congeners were 2.7 to 15 fold higher in Greenlandic relative to Polish and Ukrainian men. Geometric mean concentrations of the sum of the most abundant PBDEs of the Penta-BDE commercial mixture (BDE-47, 99, 100, 153 and 154) were 6.1, 1.7 and 0.87 ng/g lipids in the Greenlandic, Polish and Ukrainian men, respectively. Furthermore, significant geographical differences in BFR concentrations were observed within Greenland. Principal component analysis revealed distinct clustering of samples by country of origin. The associations between Σ PBDEs and age were inconsistent, varying from no association in Greenlandic and Polish study populations to a U-shaped relationship in Ukrainians. We report BFR levels for three populations for which sparse biomonitoring data exists.

Link B, Gabrio T, Mann V, Schilling B, Maisner V, Konig M, et al. Polybrominated diphenyl ethers (PBDE) in blood of children in Baden-Württemberg between 2002/03 and 2008/09. *International journal of hygiene and environmental health*. 2012 ; 215(2) : 224-8.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDE) are used in high amounts as flame retardants in plastic materials and textiles. Due to their persistence, their accumulation in the food chain and their toxic properties they have been integrated in the human biomonitoring program of the Baden-Württemberg State Health Office since 2002. In repeated cross-sectional studies in winter 2002/03 (n = 162), 2004/05 (n = 194), 2005/06 (n = 411) and 2008/09 (n = 770) blood samples of 9-11-year-old pupils were taken, pooled and analysed for PBDE after extraction and purification by silica gel using HRGC/HRMS. Samples were pooled according

to region, gender, and breast feeding. PBDE in the pooled samples ranged from 1.9 to 12.5 ng/g blood fat (sum of all PBDE). Mean concentrations of PBDE, calculated for the four investigation periods, were 6.2 ng/g (2002/03), 5.4 ng/g (2004/05), 7.8 ng/g (2005/06) and 6.7 ng/g (2008/09). While the concentration of the decabrominated diphenyl ether (BDE-209) increased, the concentration of other congeners (BDE-47, BDE-99, BDE-100, BDE-153, BDE-154, BDE-183) decreased slightly or remained at the same level. Consistent differences with respect to gender and breast-feeding were not recognizable. Concentrations of PBDE in children range on the same level as in adults and do not seem to be critical from the toxicological point of view. Because of the slight increase of BDE-209, the internal concentrations of BDE should be monitored in the future. The strong variations in PBDE concentration between the different pooled samples indicate that, apart from ingestion, other routes of exposure (dermal, inhalation) and additional sources (textiles, building materials) must be taken into consideration.

Croes K, Colles A, Koppen G, Govarts E, Bruckers L, Van de Mierop E, et al. Persistent organic pollutants (POPs) in human milk : a biomonitoring study in rural areas of Flanders (Belgium). *Chemosphere*. 2012 ; 89(8) : 988-94.

To collect information on the concentrations of persistent organic pollutants (POPs) in the rural areas in Flanders (Belgium), 84 breastfeeding mothers were recruited in rural communities in East and West Flanders and Flemish Brabant in 2009-2010. Polychlorinated biphenyl (PCB) congeners, organochlorine pesticides, brominated flame retardants, perfluorinated compounds, polychlorinated dibenzodioxines and dibenzofurans, and dioxin-like PCBs were measured in individual milk samples and in a pooled milk sample, while some additional pollutants were only measured in the pooled sample. For most pollutants, the concentrations in this study were lower or comparable to the concentrations measured in the pooled Belgian sample of the WHO human milk study of 2006, except for the pesticides dichlorodiphenyltrichloroethane DDT (+25% for Σ DDT and metabolites) and trans-nonachlor (+94%), and for the brominated flame retardant hexachlorocyclododecane HBCDD (+153%). Perfluorinated compounds were for the first time determined in human milk samples from Belgium and the concentrations were comparable to those from other European countries. Also, interesting associations were found between the concentrations of POPs measured in human milk and personal characteristics as well as dietary habits of the study population. PFOS en PFOA concentrations were significantly higher in milk of primiparous participants compared to mothers who gave birth to their second child. Lower brominated PBDE congeners increased with increasing BMI of the mothers ($p = 0.01$ for BDE-47, $p = 0.02$ for BDE-99 and $p = 0.02$ for BDE-100). Participants consuming milk or dairy products daily had significant higher concentrations of Σ DDTs ($p = 0.03$) and oxychlorane ($p = 0.047$) in their human milk samples.

Kicinski M, Viaene MK, Den Hond E, Schoeters G, Covaci A, Dirtu AC, et al. Neurobehavioral function and low-level exposure to brominated flame retardants in adolescents : a cross-sectional study. *Environmental health : a global access science source*. 2012 ; 11 : 86.

Background : animal and in vitro studies demonstrated a neurotoxic potential of brominated flame retardants, a group of chemicals used in many household and commercial products to

prevent fire. Although the first reports of detrimental neurobehavioral effects in rodents appeared more than ten years ago, human data are sparse.

Methods : as a part of a biomonitoring program for environmental health surveillance in Flanders, Belgium, we assessed the neurobehavioral function with the Neurobehavioral Evaluation System (NES-3), and collected blood samples in a group of high school students. Cross-sectional data on 515 adolescents (13.6-17 years of age) was available for the analysis. Multiple regression models accounting for potential confounders were used to investigate the associations between biomarkers of internal exposure to brominated flame retardants [serum levels of polybrominated diphenyl ether (PBDE) congeners 47, 99, 100, 153, 209, hexabromocyclododecane (HBCDD), and tetrabromobisphenol A (TBBPA)] and cognitive performance. In addition, we investigated the association between brominated flame retardants and serum levels of FT3, FT4, and TSH.

Results : a two-fold increase of the sum of serum PBDE's was associated with a decrease of the number of taps with the preferred-hand in the Finger Tapping test by 5.31 (95% CI: 0.56 to 10.05, $p = 0.029$). The effects of the individual PBDE congeners on the motor speed were consistent. Serum levels above the level of quantification were associated with an average decrease of FT3 level by 0.18 pg/mL (95% CI: 0.03 to 0.34, $p = 0.020$) for PBDE-99 and by 0.15 pg/mL (95% CI: 0.004 to 0.29, $p = 0.045$) for PBDE-100, compared with concentrations below the level of quantification. PBDE-47 level above the level of quantification was associated with an average increase of TSH levels by 10.1% (95% CI: 0.8% to 20.2%, $p = 0.033$), compared with concentrations below the level of quantification. We did not observe effects of PBDE's on neurobehavioral domains other than the motor function. HBCDD and TBBPA did not show consistent associations with performance in the neurobehavioral tests.

Conclusions : this study is one of few studies and so far the largest one investigating the neurobehavioral effects of brominated flame retardants in humans. Consistently with experimental animal data, PBDE exposure was associated with changes in the motor function and the serum levels of the thyroid hormones.

Vizcaino E, Grimalt JO, Lopez-Espinosa MJ, Llop S, Rebagliato M, Ballester F. Polybromodiphenyl ethers in mothers and their newborns from a non-occupationally exposed population (Valencia, Spain). Environment international. 2011 ; 37(1) : 152-7.

Polybromodiphenyl ethers (PBDEs) were analyzed in blood serum of pregnant women and in cord blood serum of their newborns from a general population cohort ($n = 174$; Valencia, Spain). The most abundant PBDE congeners identified were BDE-47, BDE-99, BDE-153, BDE-154 and BDE-209. Their cord blood serum concentrations were about 45% of those in maternal serum but after lipid normalization about the same concentrations were observed in both types of samples. Thus, median of total PBDEs was 9.6 ng/g lipid in cord serum (range between not detected and 140 ng/g lipid) and 9.6 ng/g lipid in maternal serum (range between not detected and 120 ng/g lipid). The distributions of these compounds were dominated by BDE-47 in both cases. In cord blood serum the decreasing order of abundance was BDE-47 > BDE-99 > BDE-209 > BDE-153 > BDE-154. The congener composition in maternal serum followed a similar trend : BDE-47 > BDE-153 > BDE-154 > BDE-209 > BDE-

99. The congener concentrations exhibited a higher degree of correlation in cord blood than in maternal serum. Use of the maternal determinants for categorization of the observed maternal and fetal PBDE concentrations only showed significant associations for the levels in umbilical cord. Neonates from rural areas exhibited statistically significantly lower concentrations than those from urban, semi-urban or metropolitan sites. Maternal serum also showed this difference but the higher dispersion of the concentrations in maternal serum did not afford its recognition with statistical significance. The lower qualitative and quantitative variability in the PBDE concentrations of cord blood serum than maternal serum suggest that the latter is reflecting PBDE contributions from a wider diversity of sources than the former whereas cord blood sera seem to represent the long term standing stock of these compounds accumulated in the maternal tissues.

Kalantzi OI, Geens T, Covaci A, Siskos PA. Distribution of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and other persistent organic pollutants in human serum from Greece. Environment international. 2011 ; 37(2) : 349-53.

Human serum samples (n = 61) were collected in Attika, Greece between June and October 2007 and analyzed for polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), hexabromocyclododecane (HBCDD), polychlorinated biphenyls (PCBs) and organochlorine pesticides (OCPs). Thirty samples were collected from computer clerks of a large computer company in Athens working full-time with computers, and thirty-one from a control population in the Attika region with no computer use. $\Sigma(5)$ PBDE concentrations (sum of tri- to hexa-BDEs) in all samples (n = 61) ranged from 0.68 to 13.3 ng.g⁻¹ lipid, with a median of 1.07 ng.g⁻¹ lipid. These concentrations are on the lower end of those reported from other countries, probably reflecting lower usage of PBDE-containing products or lower exposures to these chemicals. Individual and $\Sigma(5)$ PBDE concentrations did not statistically differ between the two groups of computer clerks and non-computer users (p > 0.05), with the exception of BDE-153 (p = 0.033). The predominant congener was BDE-153, followed by BDEs 47, 100, 99, 183, 154 and 28. HBCDD was also detected in 70% of the samples. BDE-209 was detected in 8 out of 61 samples (13%), with concentrations ranging from 1.18 to 19.1 ng.g⁻¹ lipid, and a median of 2.94 ng.g⁻¹ lipid. No age dependency was found for PBDEs. $\Sigma(11)$ PCB (sum of PCBs 74, 99, 118, 138, 146, 153, 156, 170, 180, 183 and 187,) in all samples (n = 61) ranged from 36 to 402 ng.g⁻¹ lipid, with a median of 110 ng.g⁻¹ lipid. pp'-DDE concentrations ranged from 53.8 to 1649 ng.g⁻¹ lipid, with a median of 268 ng.g⁻¹ lipid. This is the first study to report levels of PBDEs in a possibly occupationally exposed subset of the Greek population.

Thomsen C, Stigum H, Froshaug M, Broadwell SL, Becher G, Eggesbo M. Determinants of brominated flame retardants in breast milk from a large scale Norwegian study. Environment international. 2010 ; 36(1) : 68-74.

Brominated flame retardants (BFRs), particularly polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), are widely present in human populations. In order to investigate human exposure pathways and associations with socioeconomic and lifestyle factors, 393 breast milk samples from mothers living in various regions throughout Norway were analyzed. Up to ten PBDE congeners were measured in all the samples, hexabromocyclododecane (HBCDD) and BDE-209 in subsets of 310 and 46, respectively. The median concentrations of the sum of the

seven most prominent PBDEs (BDE-28, 47, 99, 100, 153, 154 and 183), BDE-209 and HBCDD were 2.1, 0.32 and 0.86 ng/g lipids, respectively. These concentrations are comparable to the levels generally observed in human populations in Europe. The frequency distributions were quite skewed with long tails towards higher concentrations. Maternal age, parity, education, having a cohabitant employed as electrician, and ventilation were factors significantly associated with some of the BFRs, although these factors only explained a small amount of the variability (R^2 0.04-0.16). The mothers' diet was not found to influence the breast milk PBDE and HBCDD levels. Our results show that sources other than the diet are important for the variability seen in breast milk BFR concentrations and that exposure from the indoor atmosphere should be emphasized in future studies.

Ryan JJ, Rawn DF. The brominated flame retardants, PBDEs and HBCDD, in Canadian human milk samples collected from 1992 to 2005 ; concentrations and trends. *Environment international*. 2014 ; 70 : 1-8.

Human milk samples were collected from individuals residing in various regions across Canada mostly in the years 1992 to 2005. These included five large cities in southern Canada as well as samples from Nunavik in northern Quebec. Comparative samples were also collected from residents of Austin, Texas, USA in 2002 and 2004. More than 300 milk samples were analysed for the brominated flame retardants (BFRs), PBDEs and HBCDD, by extraction, purification and quantification using either isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) or liquid chromatography-MS. The Canadian total PBDE values in the years 2002-2005 show median levels of about 20 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ on a lipid basis; a value significantly higher than in the 1980s and 1990s. Milk samples from Inuit donors in the northern region of Nunavik were slightly lower in PBDE concentrations than those from populated regions in the south of Quebec. Milk samples from Ontario contained slightly lower amounts of PBDEs in two time periods than those from Texas. HBCDD levels in most milk samples were usually less than 1ppb milk lipid and dominated by the α -isomer. This large data set of BFRs in Canadian human milk demonstrates an increase in the last few decades in human exposure to BFRs which now appears to have stabilized.

Zhou SN, Buchar A, Siddique S, Takser L, Abdelouahab N, Zhu J. Measurements of selected brominated flame retardants in nursing women : implications for human exposure. *Environmental science & technology*. 2014 ; 48(15) : 8873-80.

We have examined several emerging brominated flame retardants (BFRs) including 2-ethyl-1-hexyl-2,3,4,5-tetrabromobenzoate (TBB), bis(2-ethylhexyl) tetrabromophthalate (TBPH), 1,2-bis(2,4,6-tribromophenoxy) ethane (BTBPE), 4,5,6,7-tetrabromo-1,1,3-trimethyl-3-(2,3,4,5-tetrabromophenyl)-indane (OBIND), and decabromodiphenyl ethane (DBDPE) in paired human maternal serum ($n = 102$) and breast milk ($n = 105$) collected in 2008-2009 in the Sherbrooke region in Canada. Three legacy BFRs were also included in the study for comparison : decabromobiphenyl (BB-209), 2,2',4,4',5,5'-hexabromobiphenyl (BB-153), and 2,2',4,4',5,5'-hexabromodiphenyl ethers (BDE-153). TBB, BB-153, and BDE-153 had detection frequencies greater than 55% in both serum and milk samples. Their lipid weight (lw) adjusted median concentrations (ng g⁻¹ lw) in serum and milk were 1.6 and 0.41 for TBB, 0.48 and 0.31 for BB-153, and 1.5 and 4.4 for BDE-153, respectively. The detection

frequencies for the other BFRs measured in serum and milk were 16.7% and 32.4% for TBPH, 3.9% and 0.0% for BTBPE, 2.0% and 0.0% for BB-209, 9.8% and 1.0% for OBIND, and 5.9% and 8.6% for DBDPE. The ratio of TBB over the sum of TBB and TBPH (fTBB) in serum (0.23) was lower than that in milk (0.46), indicating TBB has a larger tendency than TBPH to be redistributed from blood to milk. Overall, these data confirm the presence of non-PBDE BFRs in humans, and the need to better understand their sources, routes of exposure, and potential human health effects.

Rawn DF, Ryan JJ, Sadler AR, Sun WF, Weber D, Laffey P, et al. Brominated flame retardant concentrations in sera from the Canadian Health Measures Survey (CHMS) from 2007 to 2009. *Environment international*. 2014 ; 63 : 26-34.

Pooling of surplus serum from individual samples, collected between 2007 and 2009 during Cycle 1 of the Canadian Health Measures Survey (CHMS), was performed to develop a national baseline estimate of brominated flame retardants in Canadians. Serum samples were categorized by sex and distributed by five age groups ranging from 6 to 79 years. Nearly 5000 (4583) serum samples were used to form 59 composite pools. Serum pools were created to ensure a high detection frequency of these analytes in serum because low volume samples had previously resulted in non-detectable concentrations. The analytes of interest in these serum pools included 23 polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and three hexabromocyclododecane (HBCDD) isomers (α -, β - and γ -HBCDD). PBDEs were observed in all samples tested and total PBDE concentrations ranged from 27 ng.g⁻¹ lipid to 130 ng.g⁻¹ lipid (geometric mean [GM] 46 ng.g⁻¹ lipid). Σ PBDE concentrations were significantly elevated in samples representing the 6-11 year old age group (GM 65 ng.g⁻¹ lipid) relative to ages above 40 years, although no difference in concentration was observed between the sexes. PBDE concentrations in Canadian sera from the general population were higher than reported in Europe and Asia, but a little lower than observed in the US. PBDE-47 was the greatest contributor to Σ PBDE concentrations and the GM concentration for this congener was 22 ng.g⁻¹ lipid. The other dominant contributors to Σ PBDE concentrations were in descending order : 153 [GM 9.4 ng.g⁻¹ lipid] > 99 [GM 4.6 ng.g⁻¹ lipid] \cong 100 [GM 4.1 ng.g⁻¹ lipid] > 209 [GM 1.1 ng.g⁻¹ lipid] and 183 [GM 0.42 ng.g⁻¹ lipid]. Σ HBCDD was detected in all samples analysed, although most samples were observed at concentrations < 1 ng.g⁻¹ lipid, similar to global concentrations. α -HBCDD was the dominant contributor to Σ HBCDD concentrations in Canadians although β - and γ -HBCDD were detected in 23% and 35% of the samples, respectively. No differences in Σ HBCDD concentration were associated with age or sex. This dataset represents the first national data describing HBCDD isomers and some PBDEs (e.g., 183, 209) in Canadians.

Turgeon O'Brien H, Blanchet R, Gagne D, Lauziere J, Vezina C, Vaissiere E, et al. Exposure to toxic metals and persistent organic pollutants in Inuit children attending childcare centers in Nunavik, Canada. *Environmental science & technology*. 2012 ; 46(8) : 4614-23.

Arctic populations are exposed to substantial levels of environmental contaminants that can negatively affect children's health and development. Moreover, emerging contaminants have never been assessed in Inuit children. In this study, we document the biological exposure to

toxic metals and legacy and emerging persistent organic pollutants (POPs) of 155 Inuit children (mean age 25.2 months) attending childcare centers in Nunavik. Blood samples were analyzed to determine concentrations of mercury, lead, polychlorinated biphenyls (PCBs), pesticides, brominated flame retardants [e.g., polybrominated diphenyl ethers (PBDEs)] and perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances [PFASs ; e.g. perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctane (PFOA)]. Lead [geometric mean (GM) 0.08 $\mu\text{mol/L}$], PCB-153 (GM 22.2 ng/g of lipid), BDE-47 (GM 184 ng/g of lipid), PFOS (GM 3369 ng/L), and PFOA (GM 1617 ng/L) were detected in all samples. Mercury (GM 9.8 nmol/L) was detected in nearly all blood samples (97%). Levels of metals and legacy POPs are consistent with the decreasing trend observed in Nunavik and in the Arctic. PBDE levels were higher than those observed in many children and adolescents around the world but lower than those reported in some U.S. cities. PFOS were present in lower concentrations than in Nunavimmiut adults. There is a clear need for continued biomonitoring of blood contaminant levels in this population, particularly for PBDEs and PFASs.

Siddique S, Xian Q, Abdelouahab N, Takser L, Phillips SP, Feng YL, et al. Levels of dechlorane plus and polybrominated diphenylethers in human milk in two Canadian cities. *Environment international*. 2012 ; 39(1) : 50-5.

Flame retardant dechlorane plus (DP) and several polybrominated diphenylether (PBDE) congeners have been measured in 87 human milk samples collected in two Canadian cities : Kingston and Sherbrooke. The levels of PBDEs in human milk [mean (median), ng.g^{-1} lipid weight = 10 (5.9), 4.1 (2.8), 3.0 (1.6), 5.12 (1.6), and 15 (ND) for BDE-47, BDE-99, BDE-100, BDE-153, and BDE-209, respectively] were comparable to those reported in Europe, U.S.A. and China. The levels of DP, with a mean value of 0.98 ng.g^{-1} and a median value of 0.60 ng.g^{-1} (lipid weight), were two to ten times lower than those of concurrently measured major PBDEs including BDE-209. While there is little difference in the levels of measured contaminants in milk samples collected from the two cities, the contaminants levels in human milk show, indicated by Principal Components Analysis, that DP, deca-BDE, and penta-BDE come from three distinct sources. The mean and median isomer ratio values of DP in milk were 0.67 and 0.69, respectively, very similar to that of DP commercial products.

Park JS, Voss RW, McNeel S, Wu N, Guo T, Wang Y, et al. High exposure of California firefighters to polybrominated diphenyl ethers. *Environmental science & technology*. 2015 ; 49(5) : 2948-58.

Concern about persistent organic pollutants (POPs) in Californians prompted the state's biomonitoring program to conduct a study in firefighters, who are occupationally exposed to high levels of POPs. In this work we present serum concentrations of several classes of POPs (polybrominated diphenyl ethers [PBDEs], polychlorinated biphenyls [PCBs], and organochlorine pesticides [OCPs]) in 101 Southern California firefighters. Despite recently reported declining trends of PBDEs in Californians, high levels were measured in firefighters' serum ($\Sigma 5\text{PBDEs}$: median = 59.1 ng/g of lipid ; range = 18.8-714 ng/g of lipid) in comparison to other populations in California during the same period. In addition, nearly one-third of subjects had particularly high serum levels of decabromodiphenyl ether (BDE-209), consistent with other recent results in firefighters ; this pattern may be a marker of recent

firefighting activity. In contrast, serum levels of PCBs and OCPs measured in firefighters' sera were not elevated compared to U.S. levels. Multivariable analysis indicated that lower levels of serum PBDEs were associated with turnout gear cleaning and storage practices after fires. Our study supports the hypothesis that firefighting activities are likely to increase exposure to PBDEs and that good housekeeping and personal hygiene practices may reduce exposure to these compounds.

Turyk ME, Anderson HA, Steenport D, Buelow C, Imm P, Knobeloch L. Longitudinal biomonitoring for polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in residents of the Great Lakes basin. *Chemosphere*. 2010 ; 81(4) : 517-22.

Cross-sectional surveys of human blood and breast milk show increasing concentrations of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) that parallel the expanded use in consumer products, but longitudinal studies are lacking. We compared levels of major BDE congeners in archived 1994-1995 blood samples collected from a cohort of frequent and infrequent Great Lakes fish consumers with levels in the blood collected from the same individuals in 2001-2003 and 2004-2005. In mixed linear regression models controlling for multiple measurements per individual and covariates, statistically significant increases were seen from 1994-1995 to 2001-2003 for Σ PBDEs and BDE-47, 99, and 153 and from 1994-1995 to 2004-2005 for Σ PBDEs and BDE-99, 100, and 153, but Σ PBDEs and BDE congeners did not change significantly between 2001-2003 and 2004-2005. Changes in body burdens of Σ PBDEs and BDE-47, 100, and 153 in men were modified by BMI, with greater increases in men with higher BMI. Increases in BDE-153 were greater for women than men, and a greater increase in BDE-100 was found in older participants. There was a shift in the congener distribution with a significant increase in the proportion of BDE-153 relative to BDE-47 from 2001-2003 to 2004-2005.

Dunn RL, Huwe JK, Carey GB. Biomonitoring polybrominated diphenyl ethers in human milk as a function of environment, dietary intake, and demographics in New Hampshire. *Chemosphere*. 2010 ; 80(10) : 1175-82.

Human milk is a valuable biological specimen for biomonitoring lipid-soluble polybrominated diphenyl ethers (PBDEs). The purpose of this study was to determine the levels of PBDEs in human milk from New Hampshire and to examine potential relationships between PBDE levels in human milk and stage of lactation, maternal characteristics, living environment and dietary intake. Forty women provided up to three human milk samples at the end of their first, second and third month of breastfeeding for evaluation of day-to-day and month-to-month variation in PBDE levels. Participants completed four questionnaires, which provided maternal, living environment, and diet information. The sigma PBDE concentrations in human milk over the 3-month collection period ranged from 6.5 to 166.7 ng.g⁻¹ lipid. The median for the 3-month period was 29.7 ng.g⁻¹. BDE-47 was the predominant congener, however, BDE-153 predominated in 20% of the participants' samples. Day-to-day variation in sigma PBDEs was negligible; there was no significant difference in mean PBDE levels from month-to-month. Positive associations were seen between BDE-153 and age, postpartum saturated fat consumption, and the home model. There was a negative association between PBDE levels and fruit consumption during the third trimester. Our results indicate that PBDE

levels in human milk from New Hampshire are within the range that has been reported in the US, and levels are stable during the first 3-months of lactation. Our findings revealed a higher predominance pattern with BDE-153 compared to other studies, and indicate that PBDE levels are influenced by diet and the home environment.

Lunder S, Hovander L, Athanassiadis I, Bergman A. Significantly higher polybrominated diphenyl ether levels in young U.S. children than in their mothers. Environmental science & technology. 2010 ; 44(13) : 5256-62.

While young children are rarely included in biomonitoring studies, they are presumed to be at greater risk of ingesting environmental contaminants-particularly those that accumulate in foods or shed from consumer products. The widely used fire retardants polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are ubiquitous contaminants in the indoor environment and are widely detected at higher levels in Americans than in individuals from other countries. However, there are only three studies of PBDEs in U.S. children. We hypothesized that PBDEs are present in higher concentrations in young children than their mothers. PBDEs were assessed in blood samples collected concurrently from 20 mothers and their children, ages 1.5 to 4 years. The chemical analyses were performed by GC/MS applying selected ion monitoring. The samples were analyzed for 20 PBDE congeners ; 11 were detected. Sigma-PBDEs for children were typically 2.8 times higher than for mothers, with median child : mother ratios varying from 2 to 4 for individual congeners. In 19 of 20 families studied, children had higher Sigma-PBDE concentrations than their mothers with significant ($p < 0.01$) concentration differences for five of the PBDE congeners. Decabromodiphenyl ether (BDE-209) was quantitated in 13 children and 9 mothers. Other studies indicate PBDEs are not elevated at birth, suggesting that early life is an intense period of PBDE intake. Children's increased hand-to-mouth activity, dietary preferences, and exposures from breast milk may result in greater ingestion of PBDEs than adults. These findings suggest that measurements from adults likely do not reflect exposures to young children despite sharing homes and similar diets.

Toms LM, Guerra P, Eljarrat E, Barcelo D, Harden FA, Hobson P, et al. Brominated flame retardants in the Australian population : 1993-2009. Chemosphere. 2012 ; 89(4) : 398-403.

Brominated flame retardants, including hexabromocyclododecane (HBCDD) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are used to reduce the flammability of a multitude of electrical and electronic products, textiles and foams. The use of selected PBDEs has ceased, however, use of deca-BDE and HBCDD continues. While elevated concentrations of PBDEs in humans have been observed in Australia, no data is available on other BFRs such as HBCDD. This study aimed to provide background HBCDD concentrations from a representative sample of the Australian population and to assess temporal trends of HBCDD and compare with PBDE concentrations over a 16 year period. Samples of human milk collected in Australia from 1993 to 2009, primarily from primiparae mothers were combined into 12 pools from 1993 (2 pools) ; 2001 ; 2002/2003 (4 pools) ; 2003/2004 ; 2006 ; 2007/2008 (2 pools) ; and 2009. Concentrations of Σ HBCDD ranged from not quantified (nq) to 19 ng.g⁻¹ lipid while α -HBCDD and γ -HBCDD ranged from nq to 10 ng.g⁻¹ lipid and nq to

9.2 ng.g⁻¹ lipid. β -HBCDD was detected in only one sample at 3.6 ng.g⁻¹ lipid while $\Sigma(4)$ PBDE ranged from 2.5 to 15.8 ng.g⁻¹ lipid. No temporal trend was apparent in HBCDD concentrations in human milk collected in Australia from 1993 to 2009. In comparison, PBDE concentrations in human milk show a peak around 2002/03 (mean $\Sigma(4)$ PBDEs = 9.6 ng.g⁻¹ lipid) and 2003/04 (12.4 ng.g⁻¹ lipid) followed by a decrease in 2007/08 (2.7 ng.g⁻¹ lipid) and 2009 (2.6 ng.g⁻¹ lipid). In human blood serum samples collected from the Australian population, PBDE concentrations did not vary greatly ($p = 0.441$) from 2002/03 to 2008/09. Continued monitoring including both human milk and serum for HBCDD and PBDEs is required to observe trends in human body burden of HBCDD and PBDEs body burden following changes to usage.

Li P, Yang CQ, Jin J, Wang Y, Liu WZ, Ding WW. [Correlations between HBCDD and thyroid hormone concentrations in human serum from production source area]. Huan jing ke xue = Huanjing kexue/[bian ji, Zhongguo ke xue yuan huan jing ke xue wei yuan hui "Huan jing ke xue" bian ji wei yuan hui]. 2014 ; 35(10) : 3970-6.

The levels of hexabromocyclododecane (HBCDD) in human serum from the HBCDD production source region were detected by UPLC-ESI-MS/MS. The concentrations (lipid weight) of Σ HBCDD in 80 serum samples ranged from not detectable to 2702.5 ng.g⁻¹. The mean and median values were 104.9 ng.g⁻¹ and 5.9 ng.g⁻¹, respectively. The most abundant HBCDD isomer in 42 samples was γ -HBCDD, while α -HBCDD was the most abundant isomer in the other 26 serum samples. There was no significant difference in Σ HBCDD concentration among different age and gender. In this study, the thyroid hormone abnormality rate in the 80 residents was up to 33%. The thyroid hormone abnormality rate of the residents whose serum HBCDD was detected was significantly higher than those without HBCDD in serum. Since the local residents were highly exposed to HBCDD, the probability of thyroid abnormality might be significantly increased.

Yang Y, Guan J, Yin J, Shao B, Li H. Urinary levels of bisphenol analogues in residents living near a manufacturing plant in south China. Chemosphere. 2014 ; 112 : 481-6.

The use of bisphenol A (BPA) has been restricted in many countries because of its potential health effects. As a result of these restrictions, a group of bisphenol analogues that are structurally similar to BPA have been developed as the alternatives for industrial applications. However, latest researches indicated that these chemicals have similar endocrine-disrupting effects as BPA in humans. Moreover, only a limited number of studies have attempted to monitor the exposure level in humans of other bisphenol analogues. In the present study, the concentrations of seven bisphenols, including bisphenol S (BPS), bisphenol F (BPF), bisphenol B (BPB), BPA, bisphenol AF (BPAF), tetrachlorobisphenol A (TCBPA) and tetrabromobisphenol A (TBBPA), in human urine samples were measured by liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS/MS) following the enzymatic hydrolysis of glucuronidase/arylsulfatase and liquid-liquid extraction (LLE). Under the optimised conditions, high recoveries (81.6-116.8 %) were obtained for all the analytes, and the relative standard deviations (RSD, %) were less than 16.4% ($n = 6$). The isotopic internal standard calibration curves for each of the target compounds exhibited excellent linearity ($r(2) > 0.99$) and the limit of quantification (LOQ) for the analytes in urine ranged from 0.024

to 0.310 ng.mL⁻¹. The method was applied to investigate the urinary levels of these seven bisphenols in a cohort of residents living near a BPAF manufacturing plant in south China. BPS, BPF, BPA and BPAF were detected in urine samples at concentrations ranging from < LOQ to a few ng.mL⁻¹, whereas BPB, TCBPA and TBBPA were not detected. This is the first study to report the occurrence of BPF and BPAF in human urine samples. The availability of rapid and simple analytical methods may be highly useful for the future biomonitoring of these compounds.

Ding WW, Tian Y, Jin J, Wang Y, Cui C, Zhang L, et al. [Levels of hexabromocyclododecane in human breast milk and the daily intake of newborns in a Shanghai hospital]. Zhonghua yu fang yi xue za zhi [Chinese journal of preventive medicine]. 2011 ; 45(6) : 498-501.

Objective : to explore the level of hexabromocyclododecane (HBCDD) in human breast milk of delivery women in a Shanghai hospital, and estimate the daily intake of newborns from breast milk.

Methods : forty-eight delivery women in a Shanghai suburb hospital (Class A, Grade 3) were surveyed by questionnaires, and their breast milk samples were collected from September 2006 to April 2007. All the delivery women were singleton pregnancies, excluding high blood pressure, diabetes, HIV infection and adverse medical history. Three diastereoisomers (α -HBCDD, β -HBCDD, γ -HBCDD) were measured by the liquid chromatography-electrospray ion source-tandem mass spectrometry, and then estimated the daily intake of the newborns from the breast milk.

Results : the total HBCDD concentration of breast milk, which was detected in 79% (38/48) of samples, ranged from 0.11 ng/g lipid weight (lw) to 37.75 ng/g lw, with the median at 1.42 ng/g lw. The most abundant diastereoisomer was α -HBCDD which detected in 77% (37/48) of samples, with a median of 1.24 ng/g lw ; followed by γ -HBCDD and β -HBCDD, detected in 13% (6/48) and 17% (8/48) of samples respectively, whose median were both under the limit of detection (LOD). The daily intake of the newborns from the breast milk ranged from 0.71 ng.kg⁻¹ to 243.46 ng.kg⁻¹.

Conclusion : the concentrations of HBCDD in breast milk of delivery women in a Shanghai hospital have been in a high level, and the influence on newborns' health need to be further studied.

Chen C, Chen J, Zhao H, Xie Q, Yin Z, Ge L. Levels and patterns of polybrominated diphenyl ethers in children's plasma from Dalian, China. Environment international. 2010 ; 36(2) : 163-7.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are potential persistent organic pollutants which have raised many concerns in recent years. Research focusing on children exposure to PBDEs is important but insufficient. The levels and patterns of PBDEs in children's plasma from Dalian, China were studied for the first time. Seventeen PBDE congeners (BDE-30, 28,

35, 37, 75, 47, 66, 100, 99, 116, 155, 154, 153, 183, 181, 190 and 209) in 29 plasma samples were measured. Median PBDE concentration was 31.61 ng.g⁻¹ lipid. BDE-153 was the dominant congener, followed by BDE-99, 47, and 183. High abundance of BDE-183 suggested a higher Octa-BDE use in China. No significant differences were observed between males and females or among different age groups. The levels of PBDEs in children's plasma in the present study were 9-30 times higher than those in non-occupational exposure people from Guangzhou, South China and those in human milk of general adults from other cities of China, but were at the moderate levels of those in children around the world. These results indicate that children in Dalian are at a high risk of exposure to PBDEs.

Marteau C, Chevolleau S, Jouanin I, Perdu E, De Sousa G, Rahmani R, et al. Development of a liquid chromatography/atmospheric pressure photo-ionization high-resolution mass spectrometry analytical method for the simultaneous determination of polybrominated diphenyl ethers and their metabolites: application to BDE-47 metabolism in human hepatocytes. Rapid communications in mass spectrometry : RCM. 2012 ; 26(6) : 599-610.

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are flame retardants widely used in electronic and domestic goods. These persistent pollutants are present in the environment and in humans, and their toxicological properties are of growing concern. PBDEs can be metabolised into compounds suspected to be responsible for their toxicity. These metabolites have been characterised quite well in rodents and fish, but available information in humans remains scarce. For their identification, an efficient method for the simultaneous analysis of PBDEs, hydroxylated PBDEs (OH-PBDEs), and other PBDE metabolites in a single run was needed and has been developed in this work. Atmospheric pressure ionisation modes were compared, and Atmospheric Pressure Photo-Ionization (APPI) was selected. After careful setting of APPI parameters such as dopant and operating temperature, the optimised method was based on APPI ionization coupled to High-Resolution Mass Spectrometry operating in the full scan mode at a resolution of 60 000. This provided excellent sensitivity and specificity, allowing the discrimination of signals which could not be resolved on a triple quadrupole used as a reference. The full-scan high-resolution acquisition mode allowed monitoring of both parent PBDEs and their metabolites, including hydroxylated PBDEs, with detection limits ranging from 0.1 pg to 4.5 pg injected on-column based on the investigated standard compounds. The method was applied to the study of BDE-47 metabolism after incubation with human primary cultures of hepatocytes, and proved to be efficient not only for monitoring the parent compound and expected hydroxylated metabolites, but also for the identification of other non-targeted metabolites. In addition to hydroxy-BDE-47, several conjugated metabolites could be located, and the formation of a dihydrodiol derivative was evidenced for the first time in the case of PBDEs in this work.

Frederiksen M, Vorkamp K, Mathiesen L, Mose T, Knudsen LE. Placental transfer of the polybrominated diphenyl ethers BDE-47, BDE-99 and BDE-209 in a human placenta perfusion system : an experimental study. Environmental health : a global access science source. 2010 ; 9 : 32.

Background : polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) have been widely used as flame

retardants in consumer products. PBDEs may affect thyroid hormone homeostasis, which can result in irreversible damage of cognitive performance, motor skills and altered behaviour. Thus, in utero exposure is of very high concern due to critical windows in fetal development.

Methods : a human ex vivo placenta perfusion system was used to study the kinetics and extent of the placental transfer of BDE-47, BDE-99 and BDE-209 during four-hour perfusions. The PBDEs were added to the maternal circulation and monitored in the maternal and fetal compartments. In addition, the perfused cotyledon, the surrounding placental tissue as well as pre-perfusion placental tissue and umbilical cord plasma were also analysed. The PBDE analysis included Soxhlet extraction, clean-up by adsorption chromatography and GC-MS analysis.

Results and discussion : placental transfer of BDE-47 was faster and more extensive than for BDE-99. The fetal-maternal ratios (FM-ratio) after four hours of perfusion were 0.47 and 0.25 for BDE-47 and BDE-99, respectively, while the indicative permeability coefficient (IPC) measured after 60 minutes of perfusion was 0.26 h^{-1} and 0.10 h^{-1} , respectively. The transport of BDE-209 seemed to be limited. These differences between the congeners may be related to the degree of bromination. Significant accumulation was observed for all congeners in the perfused cotyledon as well as in the surrounding placental tissue.

Conclusion : the transport of BDE-47 and BDE-99 indicates in utero exposure to these congeners. Although the transport of BDE-209 was limited, however, possible metabolic debromination may lead to products which are both more toxic and transportable. Our study demonstrates fetal exposure to PBDEs, which should be included in risk assessment of PBDE exposure of women of child-bearing age.

Emond, C., Raymer, J.H., Studabaker, W. B., Garner, C. E., and Birnbaum, L. S. (2010). A physiologically based pharmacokinetic model for developmental exposure to BDE-47 in rats. *Toxicol Appl. Pharmacol* 242(3), 290-298.

Emond C, Sanders J.M., Wikoff D., Birnbaum L.S. *Toxicol Appl. Pharmacol* 2013 Dec 1 ; 273(2) : 335-44.

Hakk H, Szabo DT, Huwe J, Diliberto J, Birnbaum LS. Novel and distinct metabolites identified following a single oral dose of alpha- or gamma-hexabromocyclododecane in mice. *Environmental science & technology*. 2012 ; 46(24) : 13494-503.

The metabolism of α - and γ -hexabromocyclododecane (HBCDD) was investigated in adult C57BL/6 female mice. α - or γ -[^{14}C]HBCDD ($3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ bw}$) was orally administered with subsequent urine and feces collection for 4 consecutive days ; a separate group of mice was dosed and sacrificed 3 h postexposure to investigate tissue metabolite levels. Extractable and nonextractable HBCDD metabolites were quantitated in liver, blood, fat, brain, bile, urine,

and feces and characterized by LC/MS (ESI-). Metabolites identified were distinct between the two stereoisomers. In mice exposed to α -HBCDD, four hydroxylated metabolites were detected in fecal extracts, and one of these metabolite isomers was consistently characterized in liver, brain, and adipose tissue extracts. In contrast, fecal extracts from mice exposed to γ -HBCDD contained multiple isomers of monohydroxy-pentabromocyclododecene, dihydroxy-pentabromocyclododecene, and dihydroxy-pentabromocyclododecadiene, while in liver and adipose tissues extracts only a single monohydroxy-pentabromocyclododecane metabolite was observed. Both stereoisomers were transformed to metabolites which formed covalent bonds to proteins and/or lipids in the gut as suggested by high fecal nonextractables. The presence of tissue- and excreta-specific metabolic products after in vivo exposure to the two main HBCDD stereoisomers supports previous toxicokinetic studies indicating that these two stereoisomers are biologically distinct. The distinct metabolic products identified in this study have the potential to aid in the identification of stereoisomer-specific HBCDD exposures in future biomonitoring studies.

Szabo DT, Diliberto JJ, Hakk H, Huwe JK, Birnbaum LS. Toxicokinetics of the flame retardant hexabromocyclododecane alpha: effect of dose, timing, route, repeated exposure, and metabolism. Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology. 2011 ; 121(2) : 234-44.

Alpha-hexabromocyclododecane (α -HBCDD) is an emerging persistent organic pollutant present in the hexabromocyclododecane (HBCDD) commercial mixture. HBCDD is used as an additive flame retardant in a wide variety of household consumer products. Three main stereoisomers, alpha (α), beta (β), and gamma (γ), comprise roughly 10, 10, and 80% of the mixture, respectively. Despite its small contribution to HBCDD global production and usage, α -HBCDD is the major stereoisomer found in wildlife and human tissues including breast milk and blood in North America, European Union, and Asia. No mammalian or human data are currently available regarding the toxicokinetics of α -HBCDD. This study was conducted in an effort to fully characterize the absorption, distribution, metabolism, and elimination of α -HBCDD following a single and repeated exposure with respect to dose, time, and route of administration in female C57BL/6 mice. Results indicate that $\sim 90\%$ of the administered dose ($3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) was absorbed after oral exposure. Disposition was (1) dictated by lipophilicity, as adipose, liver, muscle, and skin were major depots and (2) was dose dependent with nonlinear accumulation at higher doses. Elimination, both whole-body and from individual tissues, was biphasic. α -HBCDD-derived radioactivity was excreted in the feces as parent and metabolites, whereas urine only contained metabolites. Presence of polar metabolites in the blood and urine were a major factor in determining the rapid initial whole-body half-life after a single oral exposure. Initial half-lives were ~ 1 -3 days and much longer terminal half-lives of 17 days were observed, suggesting the potential for α -HBCDD bioaccumulation. A 10-day repeated study supports α -HBCDD bioaccumulation potential. Stereoisomerization previously observed after exposure to γ -HBCDD was not seen after exposure of α -HBCDD. The toxicokinetic behavior reported here has important implications for the extrapolation of toxicological studies of the commercial HBCDD mixture to the assessment of risk of α -HBCDD which is the major stereoisomer found in wildlife and people.

Zhang W, Cai Y, Sheng G, Chen D, Fu J. Tissue distribution of decabrominated diphenyl ether (BDE-209) and its metabolites in sucking rat pups after prenatal and/or postnatal exposure. Toxicology 2011 ; 283(1) : 49-54.

Growing evidence has shown that decabromodiphenyl ether (BDE-209) can disrupt thyroid hormones and induce neurological and developmental effects, especially for the fetuses and neonates after prenatal or postnatal exposure. The present study was carried out to examine the effects of in utero and lactational exposure to BDE-209 on the absorption and tissue distribution of BDE-209 and its metabolites in offspring. Pregnant Sprague-Dawley rats were given daily oral doses of $5\mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ b.w. BDE-209 in peanut oil during gestational and lactational period or during lactational period only. BDE-209 and its debrominated congeners were analyzed in several maternal tissues, offspring carcass and neonatal tissues. The occurrence of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and their time profiles in maternal blood, placenta and fetuses/sucking pups indicated that BDE-209 and its debrominated products can be transferred from mother to offspring via in utero or lactational exposure. Nona-BDEs were the predominant congeners in the analyzed pup tissues, and BDE-206 was the most abundant congener while BDE-197/204 was the major congener of octa-BDE. Then the contributions of transplacental and lactational transfer were compared for BDE-209 and its debrominated congeners. The levels of PBDEs in tissues of sucking pups of the in utero and lactational exposure group were much higher than those of only lactationally exposed group. BDE-197/204 was the debrominated congener with the most significant difference between these two groups and the pup brain was the tissue with the most significant difference of the levels of debrominated congeners. The results provide a basis for understanding the possible adverse effects caused by maternal transfer of BDE-209 during the critical periods of development of fetuses and sucking neonates.

Annexe 4 :

Synthèse des conclusions de l'EFSA (EFSA, 2011) :Principales conclusions de l'EFSA (2011) concernant la toxicocinétique des PBDE (<http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/2156>)

Toxicokinetic data for PBDEs are rather limited. Following oral exposure, BDE-209 is absorbed to a limited extent (< 25% of the administered dose) and is mainly distributed to adrenals, kidneys, and liver. Absorption of the other congeners is typically 70-80% of the administered dose, with lipophilic tissues as the preferred sites for deposition. Elimination characteristics of PBDE congeners in animals and humans differ considerably, with elimination half-lives for individual congeners in rats ranging from about 2 to 20 days, whereas for humans half-lives in the range of 926 days (BDE-47) to about 1,560 days (BDE-153) have been reported. This large difference in kinetics hampers a direct extrapolation of animal dose-response data to humans.

Principales conclusions de l'EFSA (2013) concernant le métabolisme du TBBPA (<http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/2477>)

The limited toxicokinetics data suggest that, following oral administration of TBBPA to rats about 70% is absorbed, distributed in different tissues and rapidly excreted *via* the bile in faeces. Metabolites identified in the bile were mainly glucuronide or sulphate conjugates of TBBPA. Tribromo-BPA has been identified in faeces, suggesting that debromination of TBBPA can occur in mammals. The plasma half-life in rats was estimated to be about half a day. In humans, the half-life of TBBPA-glucuronide in plasma appeared to be between 48 and 72 h.

Principales conclusions de l'EFSA (2011) concernant le métabolisme des HBCDDs (<http://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/2296>.)

Toxicological studies with HBCDDs were performed with technical mixtures of which the purity and composition was not always specified. A typical composition for a mixture used in some of these studies was 9-13% α -HBCDD, < 0.5-12% β -HBCDD and 72-90% γ -HBCDD. The composition of these mixtures differs from the HBCDD profile found in wildlife and in foods, where α -HBCDD usually is the predominant stereoisomer.

The available toxicokinetics data, suggest that orally administered HBCDD is easily absorbed and rapidly distributed in different tissues, with some differences observed between γ - and α -isomer. In contrast to γ -HBCDD, α -HBCDD was found to concentrate in adipose tissue. Debromination and hydroxylation seem to be the major metabolic pathways for HBCDD, but stereoisomerisation of γ -isomer to α - and β -isomers was observed in mice treated with γ -HBCDD. Stereoisomerisation was not seen after exposure to α -HBCDD. Calculation of elimination half-lives of HBCDD stereoisomers in female mice, based on concentrations in adipose tissue, vary from 3-4 days for the γ -isomer, to 17 days for the α -isomer. The half-life was estimated to be 64 days (range 23-219 days) in humans for HBCDDs (sum of α -, β - and γ -HBCDD). The CONTAM Panel noted that this estimate was based on a rather high chronic

dietary intake (142 ng/person per day) and that a lower intake would have resulted into longer half lives.

Principales conclusions de l'EFSA (2011) concernant les effets des PBDE sur les fonctions de reproduction

In summary, recent studies have reported associations of serum and/or milk single PBDE congeners and/or the sum of PBDEs with longer time to pregnancy, longer length of average menstrual cycle, shorter pre-pregnancy menstrual cycle length, delay of age when menstruation periods begin regularly. Impaired birth outcome, particularly for decreased birth weight and length, chest circumference, and BMI of infants were reported in offspring. Inverse correlations were observed between the serum BDE-153 concentration and sperm concentration and testis size. In one study, semen mobility was negatively related to BDE-47 and BDE-100 and to the sum of BDE-47, 99, 100 and 153. PBDE levels in human milk, but not in placenta, showed an association with congenital cryptorchidism. The CONTAM Panel noted that most of the associations between exposure to PBDEs and effects on fertility or offspring are either based on one single study or are inconsistent through studies. Further issues, such as small sample size, multiple comparisons (significant associations that might have occurred by chance due to the large number of statistical tests) and study design hamper interpretation of these results.

Taken together, the available studies in the littérature indicate that there are no reproductive nor teratogenic effects of TBBPA

Effects of technical HBCDD on the reproductive system were investigated in several studies in rats. Although many studies mentioned did not show any fetotoxicity or teratogenic effects of HBCDDs, in the two-generation reproduction toxicity study by Ema et al. (2008) the NOAEL for reduced fertility index and for the reduction of the number of ovarian primordial follicles is 10 mg.kg⁻¹ b.w. per day in F0 and F1 generations. In the one-generation reproduction study by van der Ven et al. (2009) the most sensitive effect on reproductive organs is a decrease in testes weight with a BMDL5 of 11.5 mg.kg⁻¹ b.w. per day.

Conclusions on PBDE and thyroid EFSA (2011)

« Animal studies with individual PBDE congeners or technical mixtures provided evidence for disturbance of thyroid homeostasis. Two recent 28 day sub-acute oral toxicity studies were conducted in adult rats with BDE-209 (van der Ven et al., 2008b) and DE-71 (van der Ven et al., 2008a). The CONTAM Panel noted that the observed effects on thyroid hormone levels were not always consistent. For BDE-47, the LOEL for effects on thyroid hormones (T4) in different studies was between 0.7 mg.kg⁻¹ b.w. (single exposure on GD6, Talsness et al., 2008) and 18 mg.kg⁻¹ b.w. (2 week exposure of adult rats, Hallgren et al., 2001; Hallgren and Darnerud, 2002). For BDE-99, three studies showed no effects on thyroid hormones (T4) either after prenatal exposure (single exposure or from GD4 to PND17) (Branchi et al., 2005; Skarman et al., 2005) or in adults (single exposure) (Alonso et al., 2010), whereas in one study with single exposure on GD6 a decrease of T4 was found with a LOEL of 0.06 mg.kg⁻¹

b.w. (Kuriyama et al., 2007). For BDE-209 a LOEL of about 300 mg.kg⁻¹ b.w. was found based on a reduction of T4 in one study after exposure at GD6-18 (Kim et al., 2009).

Effects on T3 and TSH and no changes in T4 were found in another study in rats exposed to a similar dose at PND10-42 (Lee et al., 2010). Mice seem to be more susceptible to BDE-209 with a NOEL between 10 and 20 mg.kg⁻¹ b.w., however again in one study the NOEL is based on a decrease of T4 (Rice et al., 2007) and in another on decrease of T3 (Tseng et al., 2008). The CONTAM Panel was not able to identify an explanation for these contradictory results, which makes it difficult to draw a clear conclusion on the effects of PBDE on thyroid hormone homeostasis.

The extrapolation of effects on thyroid hormone homeostasis observed in rodents to humans is complicated by differences in levels and binding capacity of circulatory transporting proteins, i.e. transthyretin and thyroid binding globulin (Capen, 1997; Hill et al., 1998). In the case of PBDEs differences in changes in total serum T4 between rodents and humans may arise from the differences in activation of pregnane X receptors that leads to up-regulation of hepatic catabolic enzymes and a subsequent decline in circulating T4 concentrations (Schuetz et al., 1998). *In vitro* reporter gene assays showed that PBDEs (BDE-47, 99 and a Penta-BDE technical product) are inducers of human and rodent PXR (Pacyniak et al., 2007; Fery et al., 2009). Although comparable information on the CAR is not available, it is likely that this receptor is also activated by PBDEs. Effects on TTR by BDE-47 (Hamers et al., 2006) and suppression of TR dependent gene expression in neural cells by BDE-100,153, 154 and 209 (Ibhazehiebo et al., 2010) represent additional mechanisms for changes in thyroid hormone homeostasis and signalling. It is noted that thyroid hormone insufficiency in both humans and in experimental animals may lead to neurodevelopmental effects (Miller et al., 2009). Therefore rodent data on the effects of PBDEs on thyroid hormone homeostasis or signalling might be of relevance for human health risk assessment.

Most epidemiological studies suggested an association between PBDEs and (sub)clinical hyperthyroidism, but two studies (Herbstman et al., 2008; Yuan et al., 2008) showed an association with (sub)clinical hypothyroidism. In a few studies (Roze et al., 2009; Herbstman et al., 2010; Gascón et al., 2011) effects on neuropsychological functioning were associated with exposure to PBDEs.

Overall, epidemiological results were inconsistent and it was noted that exposure to other halogenated contaminants could have interfered with the outcome of these studies. »

TBBPA : conclusions on thyroid (EFSA,2013)

« In a more recent 28-day study with oral doses of TBBPA of 0, 30, 100 or 300 mg.kg⁻¹ b.w., van der Ven et al. (2008) reported a decrease in T4 levels in male rats with a BMDL10 of 48 mg.kg⁻¹ b.w. In a one-generation reproduction study in rats dosed with 0, 3, 10, 30, 100, 300, 1,000 or 3,000 mg TBBPA.kg⁻¹ b.w. per day, a BMDL10 for a decrease in T4 of about 16 and 30 mg.kg⁻¹ b.w. for female and male rats, respectively was reported (van der Ven et al., 2008). The same authors reported an increased absolute weight of testes and pituitary in male rats as the most sensitive effects. They calculated a BMDL5 of 0.5 mg.kg⁻¹ b.w. per day for effects on testes weight and a BMDL10 of 0.6 mg.kg⁻¹ b.w. per day for effects on pituitary weight. In contrast, in a 2-generation reproduction study in rats, with doses up to 1,000

mg.kg⁻¹ b.w., TBBPA had no effects on testes or pituitary weights (MPI research 2002b, 2003, as cited in ECB, 2006).

Since both effects could have been initiated by a decrease in T4 levels, it was noteworthy that effects on thyroid hormone levels were not evident until much higher doses than those at which changes in testes or pituitary weight were observed. For the one-generation study, van der Ven et al. (2008) reported a BMDL10 for a decrease in T4 of about 16 and 30 mg.kg⁻¹ b.w. for female and male rats, respectively. In the same study also increased T3 levels were observed in female rats with a BMDL10 of 2.3 mg.kg⁻¹ b.w. The reported ratio between the BMD and the BMDL for this endpoint was 5.7 indicating a much larger ratio between BMDU (not reported by the authors) and the BMDL, and thus a large uncertainty in the outcome of the BMD modelling. Therefore, the CONTAM Panel concluded not to use this BMDL as the reference point. »

HBCDD : conclusions on thyroid (EFSA2011)

« Animal studies with technical HBCDD provided evidence for disturbance of thyroid hormone homeostasis. In the 28-day study by van der Ven et al. (2006) the most sensitive effect was increased relative thyroid weight in females with a BMDL10 of 1.6 mg.kg⁻¹ b.w. per day, although the CONTAM Panel had some concern about the reliability of this estimate, from visual inspection of the doseresponse curve. The two-generation rat reproductive toxicity study (Ema et al., 2008) showed effects on thyroid system with a LOEL of 100 mg.kg⁻¹ b.w. per day in F0 and F1 male animals, whereas the developmental study by Saegusa et al. (2009) indicated a NOEL of 100 mg.kg⁻¹ feed (corresponding to 8.1-21.3 mg.kg⁻¹ b.w. per day for maternal exposure), based on decrease in T3 and increase of relative thyroid weight in male offspring.

The CONTAM Panel noted that extrapolation of effects on thyroid hormone homeostasis observed in rodents to humans is complicated by differences in levels and binding capacity of transporting proteins, i.e. transthyretin and thyroid binding globulin (Capen, 1997; Hill et al., 1998), and feedback regulation of thyroid hormone homeostasis (Graham and Lake, 2008). In the case of HBCDDs, differences in changes in total serum T4 between rodents and humans may arise from the differences in activation of pregnane X receptor that leads to up-regulation of hepatic catabolic enzymes and a subsequent decline in circulating T4 concentrations (Schuetz et al., 1998).

In vitro reporter gene assays showed that HBCDDs are inducers of human and rodent PXR (Fery et al., 2009, 2010). Induction of metabolic enzymes observed by Germer et al. (2006) and Cantón et al. (2008) are also consistent with CAR/PXR activation. Competition of T4 with TTR transport protein and potentiation of T3-receptor dependent cell proliferation in a rat pituitary cell line (Hamers et al., 2006) represent additional mechanisms for changes in thyroid hormone homeostasis and signalling.

It is noted that thyroid hormone insufficiency in both humans and experimental animals may lead to neurodevelopmental effects (Miller et al., 2009). Therefore rodent data on the effects of HBCDDs on thyroid hormone levels or signalling might be of relevance for human health risk assessment. »

Principales conclusions de l'EFSA concernant les effets sur le métabolisme des PBDE (2011)

In summary, some studies link diabetes and metabolic syndrome prevalences to serum concentrations of POPs. The above discussed cross-sectional study by Lim et al. (2008), suggests associations of BDE-153 exposure with diabetes and metabolic syndrome. The study by Turyk *et al.* (2009) found a non-significant association of PBDEs with diabetes only in subjects with hypothyroid disease. The CONTAM Panel noted that cross-sectional studies may not be the most appropriate study design to investigate the relationship between diabetes and exposure to PBDEs, as they cannot rule out reverse causation in which diabetes may enhance POPs accumulation or inhibit their clearance.

HBCDD : conclusions on metabolism (EFSA,2011)

The CONTAM Panel noted that effects on bone mineral density were observed with a BMDL10 of 0.056 mg.kg⁻¹ b.w. per day (van der Ven *et al.*, 2009). The observed effect might be due to the interaction of HBCDDs with steroid hormone system, and/or decrease in retinoids. The Panel noted that the ratio between the BMDL10 and the BMDU10 for effects on bone mineral density was very large (about a factor of 20) indicating a large variation in the dose-response data. Due to the uncertainty in the data the Panel concluded not to use this BMDL as reference point for the hazard characterisation, and future observations need to confirm this effect.

Principales conclusions de l'EFSA sur les HBCDD (EFSA, 2011)

There is no evidence for a teratogenic potential of HBCDDs.

The available studies indicate that HBCDDs are not genotoxic.

There is limited information from only one long-term toxicity/carcinogenicity study for HBCDDs in B6C3F1 mice (Kurokawa *et al.*, 1984, as cited in ECB, 2008). The incidence of altered foci in the liver of males was increased, as was the incidence of liver carcinoma in females, but without a dose relationship.

In addition, the CONTAM Panel noted that the incidence of liver carcinoma was within the range of background levels for this strain of mice. Given the lack of genotoxicity the Panel concluded that the carcinogenicity is not a critical effect in the hazard characterisation of HBCDDs.

Also ECHA (2009b) has concluded that the data available on carcinogenicity do not suggest a classification of HBCDD according to EU criteria.

Principales conclusions de l'EFSA sur les effets sur le cancer des PBDE (EFSA, 2011)

The available genotoxicity studies indicate that PBDEs do not induce gene mutations, but they can cause DNA damage through the induction of ROS.

There are no long-term toxicity/carcinogenicity studies available for individual PBDE congeners or technical mixtures, with the exception of deca-BDE, and no tumor promotion studies are available. For deca-BDE there is some evidence for an increase in liver adenoma in rats and liver adenoma and carcinoma in mice, but in the view of the CONTAM Panel this was due to a secondary mode of action.

Principales conclusions de l'EFSA sur le TBBPA (EFSA, 2013)

The available *in vitro* studies indicate that TBBPA is not genotoxic. No data from *in vivo* studies are available.

No long term carcinogenicity studies on TBBPA or its derivatives were identified. However, based on the weight of evidence (absence of genotoxicity *in vitro*, no indications for proliferative changes or cytotoxicity in studies with up to 90 days repeated administration, no immunosuppression, except possibly at high doses) the CONTAM Panel concluded that there are no indications that TBBPA might be carcinogenic.

Principales conclusions de l'EFSA sur les effets des PBDE sur le système immunitaire (EFSA, 2011)

It has been suggested that PBDEs might exert toxic effects to the immune system by reducing resistance to infections by microorganisms. Only few experimental studies on immunotoxicity in which contamination of the test substance with brominated dioxins and/or furans have been controlled were identified. In summary, immunotoxic effects were observed after eight weeks exposure of ranch mink with 0.457 or 0.777 mg DE-71.kg⁻¹ b.w. per day. A single exposure of mice to Bromkal 70-5 DE or BDE-99 (20 mg.kg⁻¹ b.w.) did not affect susceptibility to CBV3 infection, but increased RSV titres were seen in offspring of dams exposed to 3,300 mg Deca-BDE.kg⁻¹ b.w. per day from GD10 to PND21.

Principales conclusions de l'EFSA concernant les effets des HBCDDs sur le système immunitaire (EFSA, 2011)

Effects on the immune system were revealed in two studies. In a 28 day study with rats (van der Ven et al., 2006) reduced splenocyte counts were found with a BMDL20 of 104 mg.kg⁻¹ b.w. per day. In a one-generation reproduction study (van der Ven et al., 2009), an increased IgG response after immunisation with SRBC was found in male offspring with a BMDL20 of 0.46 mg.kg⁻¹ b.w. per day.

Also the fraction of neutrophilic granulocytes was increased (BMDL20 7.7 mg.kg⁻¹ b.w. per day). The CONTAM Panel noted however that for both effects, the ratio between the BMDL and the benchmark dose upper limit (BMDU) was rather large (> 10) indicating a large variation in the dose-response data.

Due to the uncertainty in the data the CONTAM Panel concluded not to use these BMDLs as reference point for the hazard characterisation.

Conclusions de l'EFSA concernant les effets du TBBPA sur le système immunitaire (EFSA, 2013)

The limited information on the effects of TBBPA on the immune system indicate that TBBPA can affect the host immunity in mice after administration of 1,700 mg.kg⁻¹ b.w per day (the only dose tested) for 28 days (Watanabe et al., 2010), whereas doses up to 3,000 mg.kg⁻¹ for 28 days did not affect the immunisation response to sheep red blood cells (SRBC) in rats (van der Ven et al., 2008).

Principales conclusions de l'EFSA sur les effets sur le neurodéveloppement des PBDE (EFSA, 2011)

Experimental neurodevelopmental studies conducted in rodents show that PBDEs affect behavioural responses to a novel environment. For BDE-47 the LOEL reported from a single prenatal exposure of rats on GD6 (0.7 mg.kg⁻¹) (Kuriyama et al., 2004a) was similar to the one from postnatal exposure of mice on PND10 (1 mg.kg⁻¹). In contrast, the reported LOEL for BDE-99 varied from 0.06 mg.kg⁻¹ (single exposure on GD6 in rats, Kuriyama *et al.*, 2005)

to 0.8 mg.kg⁻¹ (single exposure on PND10 in mice; Eriksson *et al.*, 2001). For BDE-99, where exposure took place from GD6 to PND21, Branchi *et al.* (2002; 2005) found LOELs for neurobehavioural changes in mice in the range of 0.6 to 18.0 mg.kg⁻¹ b.w. per day. A recent study in mice treated with BDE-47 from 4 weeks before mating until weaning (Ta *et al.*, 2011) revealed neurobehavioral effects in female offspring with a LOEL of 1 mg.kg⁻¹ b.w.per day.

The CONTAM Panel noted that most of the information comes from studies with mice exposed to a single administration given by gavage on PND10. The available data, although limited, do not point to large differences in outcome when the same congener was administered during and/or after gestation.

In a number of neurobehavioural studies using single administration the litter effect was not taken into account appropriately since often more than one pup per litter was allocated to a specific dose group in behavioural tests. Since a difference in litter response may occur, uneven distribution of littermates over dose groups without statistical consideration of the litter as the experimental unit may bias the results of the analyses (Holson *et al.*, 2008).

Most of the behavioural studies in rodents have been performed in the same laboratory addressing a limited number of behavioural parameters. As studies of neurodevelopmental effects on behaviour can be very variable (Crofton *et al.*, 1991), it is important that where such an effect is to be used as the basis of a risk assessment, it should be independently verified. In the case of the PBDEs, there is only a limited number of other studies addressing neurodevelopmental effects on behaviour and the results obtained differed in some important respects, the reasons for which are not clear, e.g. for BDE-209 (Rice *et al.*, 2007). This inconsistency hampers a conclusive evaluation of the toxicological significance of these findings for human health risk assessment.

In addition to the limitations and the concerns regarding the single administration protocol, the CONTAM Panel noted that there are also arguments supporting the use of the results from these studies. First, they provide the lowest doses leading to neurobehavioural effects, and therefore need particular consideration. Second, due to the fact that effects are observed, these studies apparently cover a relevant neurodevelopmental period in experimental animals. Third, the half-lives and the lipophilic nature of a number of PBDE congeners are such that even a single dose would maintain exposure for an appreciable period of time. Therefore, the CONTAM Panel concluded that in this specific case, single-dose studies should be considered for the assessments of risk to human health.

Principales conclusions de l'EFSA sur les effets sur le neurodéveloppement du mélange HBCDD (EFSA, 2011)

Experimental studies in rodents have demonstrated that HBCDDs induced neurodevelopmental effects on behaviour. In a study with single administration Eriksson *et al.* (2006) exposed male NMRI mice to a dose of 0.9 or 13.5 mg.kg⁻¹ b.w. of technical HBCDD on PND10. Behavioural effects such as changes in rearing, locomotion and habituation, in response to a novel environment were already observed at 0.9 mg.kg⁻¹ b.w. Dose response analysis carried out by the CONTAM Panel resulted in a BMDL10 of 0.93 mg.kg⁻¹ b.w. In a two-generation reproduction study by Ema *et al.* (2008), Crl : CD Sprague-Dawley rats showed significant neurodevelopmental effects in the F1 and F2 offspring at the highest dose (about 1,000 mg.kg⁻¹ b.w.) only. In addition, the absolute weight of the brain was decreased in adult rats and in F1 and F2 pups exposed to 15,000 mg.kg⁻¹ feed HBCDDs. Lilienthal *et al.* (2009) conducted a one-generation dietary study with Wistar rats,

using a HBCDD mixture with dose levels ranging from 0.1 to 100 mg.kg⁻¹ b.w. per day. BMDL5 values ranging from 0.6-4.4 mg.kg⁻¹ b.w. per day for reduced latencies to movement onset in catalepsy and of 0.2-0.9 mg.kg⁻¹ b.w. per day for increased thresholds in the brainstem auditory evoked potential (BAEP). In rat offspring from dams that were exposed from GD10 until PND10 effects on oligodendroglial development were observed at the highest dose (10,000 mg.kg⁻¹ feed equivalent to about 800-2,200 mg.kg⁻¹ b.w.) (Saegusa *et al.*, 2009).

In the neurobehavioural study by Eriksson *et al.* (2006) using single administration on PND10, the litter effect was not taken into account appropriately since more than one pup per litter was allocated to a specific dose group tests. Since a difference in litter response may occur, uneven distribution of littermates over dose groups without statistical consideration of the litter as the experimental unit may bias the results of the analyses (Holson *et al.*, 2008). Moreover, as studies on developmental effects on behaviour can be very variable (Crofton *et al.*, 1991), it is important that when such an effect is to be used as the basis of a risk assessment, it should be independently verified.

In addition to the limitations and the concerns regarding the single administration protocol, the CONTAM Panel noted that there are also arguments supporting the use of the results from these studies. First, they provide the lowest doses leading to developmental effects on behaviour, and therefore need particular consideration. Second, due to the fact that effects are observed at PND10, these studies apparently cover a relevant neurodevelopmental period in experimental animals.

Therefore, the CONTAM Panel concluded that in this specific case, the single-dose study should be considered for the assessments of risk to human health.

Neurodevelopmental effects were also reported after repeated administration, in which exposure is initiated prior to mating 10 weeks for males, 2 weeks for females, and continue through mating, gestation and lactation (Lilienthal *et al.*, 2009). Of particular interests are the data showing sexdependent effects on BAEP, with male offspring rats being more sensitive, and haloperidol induced catalepsy that was affected only in female offspring. While the sex-related differences in BAEP are difficult to explain, the reduced latency to movement onset in the haloperidol induced catalepsy may be due to the higher induction of P450 enzymes in female offspring, which can affect haloperidol degradation.

Principales conclusions de l'EFSA concernant les effets du TBBPA sur le neurodéveloppement (EFSA, 2013)

There are a few studies on the possible effects of TBBPA on neurodevelopmental behaviour. In most of these studies covering single post natal dosing (0.75 or 11.5 mg.kg⁻¹ b.w.) or repeated oral administration (90 day, or two-generation studies) with dosing in the range of 10 to 1,000 mg.kg⁻¹ b.w. no effects on neurobehaviour were found. In contrast, in a study with single administration (0.1, 5, 250 mg.kg⁻¹ b.w.), effects were observed 3 hours after dosing (Nakajima *et al.*, 2009). Considering the limited information given about the experimental procedures and the unusual dose response (effects at the two lower doses but not at the highest one), the CONTAM Panel concluded that these results could not be used for risk characterization of TBBPA.

In a one-generation study by Lilienthal *et al.* (2008), BMDLs for a 5 % increase in hearing thresholds effect were reported in the range of about 1-40 mg.kg⁻¹ b.w. in female rats. The CONTAM Panel noted, however, that the reported ratio between the BMD and BMDL was

about 5 or larger indicating a much larger ratio between the BMDU (not reported by the authors) and the BMDL, and thus a large uncertainty in the outcome of the BMD modelling. In addition, the Panel noted that the increased thresholds in the brainstem auditory evoked potentials (BAEPs) are difficult to interpret and have to be confirmed by other independent investigations. Therefore, the Panel concluded that these BAEP results do not form a sound basis on which to base the risk assessment of TBBPA.

Principales conclusions de l'EFSA sur l'hépatotoxicité des PBDE (EFSA, 2011)

The liver is a target organ for effects of PBDEs. The most prominent hepatic effects are organ enlargement and hepatocellular hypertrophy and vacuolization. Furthermore, PBDEs induce a number of enzymes of hepatic drug metabolism, including those responsible for glucuronidating thyroid hormones. Changes in hepatic drug metabolism and transthyretin expression seem to play a key role in the decrease in serum T4 observed in rodents. In addition, PBDEs seem to cause oxidative stress.

Principales conclusions de l'EFSA sur l'hépatotoxicité des HBCDDs (EFSA, 2011)

The liver is a target organ for effects of HBCDDs. The most prominent hepatic effects are induction of metabolising enzymes (Germer et al., 2006), including T4 glucuronidation (BMDL10 4.1 mg.kg⁻¹ b.w. per day), and liver enlargement (BMDL20 22.9 mg.kg⁻¹ b.w. per day) observed in the 28-days study by van der Ven et al. (2006). Changes in hepatic drug metabolism and transthyretin expression seem to play a key role in the decrease in serum T4 observed in rodents. In addition, HBCDDs can lead to a decrease in apolar hepatic retinoids in the liver of female rats (BMDL10 1.3 mg.kg⁻¹ b.w. per day). The CONTAM Panel noted that for this effect the ratio between BMDL and BMDU is > 10-fold, indicating a large variation in the dose-response data. Due to the uncertainty in the data the Panel concluded not to use this BMDL as reference point for the hazard characterisation.



Agence nationale de sécurité sanitaire
de l'alimentation, de l'environnement et du travail
14 rue Pierre et Marie Curie
94701 Maisons-Alfort Cedex
www.anses.fr
www.anses.fr / [@Anses_fr](https://twitter.com/Anses_fr)