

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

ÉTUDE DES EFFETS NEUROTOXIQUES DE L'EXPOSITION  
SIMULTANÉE AU MERCURE ET AUX ORGANOCHLORÉS CHEZ  
DES CONSOMMATEURS DE POISSONS

THÈSE  
PRÉSENTÉE  
COMME EXIGENCE PARTIELLE DU  
DOCTORAT EN SCIENCES BIOLOGIQUES

PAR  
NADIA ABDELOUAHAB

JUIN 2010

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL  
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.01-2006). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

## REMERCIEMENTS

*« Rien de ce qui se fait n'est l'œuvre d'un seul.  
Il n'est que justice de le souligner »*

Du plus profond de mon cœur, j'offre mes humbles remerciements à Donna Mergler, ma directrice de thèse, dont la confiance et la patience m'ont guidée et aidée à accomplir ce travail. Merci d'avoir été un maître et une amie. Merci beaucoup Donna.

Je remercie le réseau *Collaborative Mercury Research Network* (COMERN), financé par le Conseil de Recherches en Sciences Naturelles et en génie du Canada (CRSNG), d'avoir permis toutes les recherches réalisées dans le cadre de cette thèse et de m'avoir accordé une bourse d'études doctorales. Je remercie également le Fonds de Recherche en Santé du Québec (FRSQ) qui m'a octroyé une bourse d'études doctorales pour que je puisse mener ce travail à terme.

Un grand merci à ma très chère Marie-Ève Thibault, et à tous mes amis pour leur soutien et leur amitié.

J'offre ce travail à toute ma famille, et plus particulièrement à mes frères et sœurs.

A toi, mon ami et mari Morad

Je veux finalement dédier cette réalisation à l'idole de ma vie, ma mère Akila, qui a tout sacrifié et m'a toujours encouragée à aller de l'avant, me permettant ainsi de devenir ce que je suis.

## AVANT-PROPOS

La présente thèse analyse l'impact de la consommation de poissons sur l'exposition humaine au mercure (Hg) et aux polluants organiques persistants (POP), incluant les biphényles polychlorés (BPC) et les pesticides organochlorés (POC), ainsi que l'effet de ces polluants sur la santé des consommateurs. Cette thèse est constituée de cinq chapitres, issus d'une étude épidémiologique réalisée dans deux écosystèmes du Québec.

Le premier chapitre établit la pertinence du travail effectué en présentant, dans une première section, l'état des connaissances à travers une revue exhaustive de la littérature scientifique concernant l'exposition humaine au Hg et aux BPC et leurs effets sur la santé ainsi que les connaissances actuelles sur les effets combinés entre les BPC et le Hg. La deuxième section de ce chapitre présente les aspects méthodologiques de l'étude incluant le design de recherche et la cueillette des données.

Le deuxième chapitre «*Ecosystem matters: fish consumption, mercury intake and exposure among fluvial lake fish-eaters*» est publié dans la revue "*The Science of the Total Environment*, 2008". Ce chapitre présente le profil de consommation de poissons et sa relation avec l'apport en Hg ainsi qu'avec les niveaux du Hg dans le sang et dans les cheveux. Cette partie aborde également l'influence de l'écosystème sur l'apport en Hg qui est directement en lien, non seulement, avec la fréquence de consommation de poisson mais également avec les niveaux de contamination de ces sources halieutiques. Pour ce chapitre, l'auteure a contribué à l'organisation de la collecte des données, à la saisie des données et à la revue bibliographique pour

estimer les concentrations de Hg dans les poissons du marché et de la sauvagine. L'auteure a effectué le traitement des échantillons sur le terrain, les dosages du Hg dans les échantillons de cheveux au laboratoire GEOTOP des sciences de l'environnement de l'Université du Québec à Montréal. Elle a fait les analyses statistiques, pour enfin rédiger le manuscrit.

Le troisième chapitre, est un article intitulé «*Gender differences in the effects of organochlorines, mercury and lead on thyroid hormone levels in lakeside communities of Quebec (Canada)*» déjà publié dans la revue *Environmental Research*, 2008. Cet article, démontre l'effet des POP, du mercure et du plomb sur les concentrations sériques des hormones thyroïdiennes. Il met également l'emphase sur l'importance de la considération du genre lors de l'étude des effets des polluants sur la santé, en général, et sur les hormones en particulier. Pour ce chapitre l'auteure a réalisé l'analyse des POP au laboratoire du Centre «*for Indigenous Peoples' Nutrition and Environment*» (CINE) de l'Université Mc Gill, a effectué les analyses statistiques et a rédigé le manuscrit.

Le quatrième chapitre intitulé «*Organochlorine and mercury exposure and neuro-outcomes patterns among elders*» sera soumis à la revue *Neurotoxicology*. Cet article présente les effets des POP et du Hg sur les fonctions cognitives, motrices et sensorielles. Ce chapitre démontre la sensibilité de la fonction neuropsychologique de personnes âgées aux polluants environnementaux. Il démontre, également, que les effets neurotoxiques des BPC et du Hg sont indépendants. Pour ce chapitre l'auteure a administré les tests moteurs aux participants, a réalisé l'analyse des POP au laboratoire CINE de l'Université Mc Gill, a effectué les analyses statistiques et a rédigé l'article.

Le dernier chapitre présente une synthèse de l'ensemble des résultats de la thèse et présente les conclusions générales.

## TABLE DES MATIÈRES

<b>AVANT-PROPOS</b> .....	iii
<b>TABLE DES MATIÈRES</b> .....	v
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	x
<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	xii
<b>RÉSUMÉ</b> .....	xiv
<b>CHAPITRE I</b> .....	1
<b>INTRODUCTION GÉNÉRALE</b> .....	1
<b>1. Nature du problème</b> .....	1
<b>2. État des connaissances</b> .....	7
<b>2.1 Le mercure (Hg)</b> .....	7
2.1.1 Cycle du Hg dans l'environnement .....	7
2.1.2 Sources d'exposition et métabolisme du MeHg.....	9
2.1.3 Accumulation et devenir du Hg dans le cerveau .....	12
2.1.4 Mécanismes d'actions toxiques.....	13
2.1.5 Effets neurotoxiques du mercure.....	15
2.1.6 Études canadiennes.....	18
2.1.7 Recommandations de l'exposition au mercure.....	19
<b>2.2 Les biphényles polychlorés (BPC)</b> .....	21
2.2.1 Sources d'exposition aux BPC .....	22
2.2.2 Métabolisme et toxicocinétique des BPC.....	23
2.2.3 Toxicité des BPC.....	24
2.2.4 Mécanismes d'action toxique des BPC .....	26
<b>2.3 Interaction entre le Hg et BPC</b> .....	28
<b>3. Hypothèses et objectifs de la présente thèse</b> .....	31

3.1 Hypothèse de recherche.....	31
3.2 Objectifs spécifiques de l'étude .....	31
<b>4. Considérations méthodologiques .....</b>	<b>32</b>
4.1 Recrutement et constitution de l'échantillon.....	33
4.2 Déroulement de la rencontre avec les participants.....	34
4.3 Choix des bioindicateurs d'exposition .....	35
4.3.1 Hg des cheveux .....	36
4.3.2 Hg Sanguin.....	36
4.3.3 Les BPC.....	37
4.3.4 Les pesticides organochlorés.....	37
4.3.5 Les métaux .....	38
4.4 Autre dosage.....	38
4.4.1 Les acides gras-essentiels.....	38
4.5 Contrôle de qualité des analyses.....	39
4.6 Questionnaires.....	41
4.6.1 Questionnaire de fréquence alimentaire (FFQ).....	41
4.6.2 Questionnaire sociodémographique .....	42
4.7 Mesures d'effets .....	43
4.7.1 Tests neuromoteurs.....	43
4.7.2 Les hormones thyroïdiennes.....	48
4.8 Mesures anthropométriques et médication .....	48
4.9 Estimation de l'apport en Hg/ jour ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ poids corporel/jour).....	49
4.10 Calcul de la quantité de poisson consommé / jour .....	50
4.11 Calcul de l'estimation de l'apport en Hg/ jour ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ poids corporel/jour) .....	50
4.12 Entrée et validation des données .....	51
4.13 Analyses des données.....	51
4.14 Retour aux communautés .....	52
4.15 Considérations éthiques .....	52

<b>CHAPITRE II</b> .....	53
<b>ECOSYSTEM MATTERS: FISH CONSUMPTION, MERCURY INTAKE AND EXPOSURE AMONG FLUVIAL LAKE FISH-EATERS</b> .....	53
<b>RÉSUMÉ</b> .....	54
<b>ABSTRACT</b> .....	55
<b>INTRODUCTION</b> .....	56
<b>MATERIALS AND METHODS</b> .....	58
Study sites and recruitment .....	58
Questionnaires .....	60
Anthropometric measures.....	60
Biological sampling and analysis.....	61
Fish sampling and Hg analysis .....	62
Estimated Hg Intake .....	63
Statistical analyses.....	65
<b>RESULTS</b> .....	66
Fish consumption .....	68
Estimated Hg intake .....	70
Biomarkers Hg exposure .....	72
Relation between fish consumption, Hg intake and Hg biomarkers .....	73
<b>DISCUSSION</b> .....	76
<b>ACKNOWLEDGEMENTS</b> .....	83
<b>REFERENCES</b> .....	84
<b>CHAPITRE III</b> .....	92
<b>GENDER DIFFERENCES IN THE EFFECTS OF ORGANOCHLORINES, MERCURY AND LEAD ON THYROID HORMONE LEVELS IN LAKESIDE COMMUNITIES OF QUEBEC (CANADA)</b> .....	92
<b>RÉSUMÉ</b> .....	93
<b>ABSTRACT</b> .....	94



<b>INTRODUCTION</b> .....	95
<b>METHOD</b> .....	99
Study Design and Population .....	99
Questionnaires.....	100
Biological sampling and OC analyses.....	100
Lipid determination .....	101
Hg and metals determination .....	102
Hair mercury.....	102
Thyroid hormone determination.....	103
Statistical analysis .....	103
<b>RESULTS</b> .....	105
<b>DISCUSSION</b> .....	116
<b>FUNDING SOURCES</b> .....	124
<b>ACKNOWLEDGEMENTS</b> .....	124
<b>ABBREVIATIONS</b> .....	125
<b>REFERENCES</b> .....	126
<b>CHAPITRE IV</b> .....	136
<b>ORGANOCHLORINE AND MERCURY EXPOSURE AND NEUROBEHAVIORAL PERFORMANCE AMONG FISH CONSUMERS</b>	136
<b>RÉSUMÉ</b> .....	137
<b>ABSTRACT</b> .....	138
<b>INTRODUCTION</b> .....	139
<b>METHOD</b> .....	141
Study Design and Population .....	141
Questionnaire .....	142
OC analyses .....	142
Lipid determination .....	143
Serum fatty acids .....	143

Blood Hg determination .....	144
Hair mercury .....	144
Neurobehavioral test battery .....	145
Statistical analysis .....	150
<b>RESULTS</b> .....	153
<b>DISCUSSION</b> .....	161
<b>CONCLUSION</b> .....	166
<b>ACKNOWLEDGEMENTS</b> .....	167
<b>REFERENCES</b> .....	168
<b>DISCUSSION</b> .....	174
<b>CONCLUSION</b> .....	182
<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	183

## LISTE DES FIGURES

### CHAPITRE I

Figure 1-1 Schéma général du métabolisme du Hg chez l'humain (Clarckson et al. 2007). .....	10
Figure 1-2 Formation chimique du complexe MeHg- Cystéine et structure de la Méthionine (Clarckson et al., 2007).....	12
Figure 1-3 Structure chimique d'une molécule de BPC .....	21
Figure 1-4 Lacs à l'étude dans les deux écosystèmes .....	33

### CHAPITRE II

Figure 2-1 Area of study: Lake St.Pierre and the three Abitibi lake (Preissac, Malartic and Duparquet).....	59
Figure 2-2 Distribution of daily Hg intake ( $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ ), based on questionnaire data and species-specific mercury concentration, for men and women in Abitibi and LSP.....	71
Figure 2-3 Relation between hair mercury and total blood mercury in Abitibi and LSP groups.....	72
Figure 2-4 Relation between total Hg intake and hair Hg in Abitibi and LSP groups	75
Figure 2-5 Relation between total Hg intake and total blood Hg in Abitibi and LSP group. ....	76

### CHAPITRE III

- Figure 3-1 Scatterplot of serum Arochlor 1260 and T3 for women (T3 values are adjusted for age, smoking status (yes/no), total lipids, hormones medication and blood selenium). The linear regression line and 95% confidence intervals are indicated. .... 112
- Figure 3-2 Scatterplot of serum sum PCBs vs TSH for men (adjusted for age, smoking status (yes/no), alcohol consumption (yes/no), current exposure to metals (yes/no), total lipids and blood selenium). The linear regression line and 95% confidence intervals are indicated. .... 113
- Figure 3-3 Scatterplot of blood total Hg and TSH for men (adjusted for age, smoking status (yes/no), alcohol consumption (yes/no), current exposure to metals (yes/no) and blood selenium). The linear regression line and 95% confidence intervals are indicated. .... 114
- Figure 3-4 Adjusted TSH levels for the most and the least exposed to both total blood Hg and serum dioxin- like congeners. .... 115

### CHAPITRE V

- Figure 5-1 Modèle d'effet hormesis illustrant le mécanisme de compensation physiologique. En réponse à une exposition à de faibles concentrations en substances exogènes. Selon le modèle une fois la saturation des mécanismes de réparation conjuguée à l'augmentation des niveaux d'exposition est atteinte, des effets délétères peuvent apparaître. .... 178

## LISTE DES TABLEAUX

### CHAPITRE I

Tableau 1.1 Organisation des postes de travail.....	35
Tableau 1.2 Matériel de prélèvement, conservation des échantillons et méthodologie de dosage.....	40

### CHAPITRE II

Tableau 2.1 Mean Hg concentrations ( $\mu\text{g Hg /g fresh weight}$ ) for freshwater fish and waterfowl.....	64
Tableau 2.2 Mean Hg concentrations ( $\mu\text{g Hg /g fresh weight}$ ) for market fish and seafood .....	65
Tableau 2.3 Socio-demographic information or the two ecosystem study groups: Abitibi and LSP.....	67
Tableau 2.4 Median (minimum, maximum) of daily fish and waterfowl consumption and estimated Hg intake ( $\mu\text{g/kg body weight/d}$ ) over the past 3 months.....	68
Tableau 2.5 Blood and hair mercury concentrations for Abitibi and LSP.....	70
Tableau 2.6 Regression slope estimates (beta) for biomarkers of Hg (as dependant variables) in relation to (a) fish consumption and (b) estimated Hg intake from multiple regression models (Hg biomarkers, fish consumption and Hg intake were log transformed and models included age and ,gender; number of dental amalgams were included for IHg).....	74

### CHAPITRE III

Tableau 3.1 Human adults and adolescent studies of Organochlorines (PCBs and OCPs) and effects on thyroid hormone level .....	96
Tableau 3.2 General characteristics of the study group for men and women .....	106
Tableau 3.3 Serum concentrations of PCBs, <i>p, p'</i> -DDE unadjusted and adjusted for lipids, and metals in whole blood and hair for men and women .....	108
Tableau 3.4 Percentile distribution of serum thyroid hormone levels for men and women .....	110
Tableau 3.5 Beta estimates from multiple regression analyses for each bioindicator of exposure for men and women .....	111

### CHAPITRE IV

Tableau 4.1 Covariates retained in the final models .....	152
Tableau 4.2 Characteristics of the study group stratified by age. ....	153
Tableau 4.3 Serum concentrations of OCs, total Hg in whole blood and hair and serum fatty acids stratified by age.....	155
Tableau 4.4 Mean and standard deviation for the two groups (< and > 50 years old) on assessed neuropsychological test scores by domain stratified by age.....	156
Tableau 4.5 Regression slope estimates for $\Sigma$ PCB, dioxin-like congeners, Arochlor 1260, <i>p,p'</i> -DDE, THg and HHg, in relation to Cognitive test scores for older group .....	158
Tableau 4.6 Regression slope estimates for $\Sigma$ PCB, Dioxin-like congeners, Arochlor 1260, <i>p,p'</i> -DDE and THg, HHg, in relation motor and sensory test scores for older group. ....	160

## RÉSUMÉ

Le mercure (Hg) et les biphenylpolychlorés (BPC) sont des polluants ubiquitaires qui menacent la santé des écosystèmes et des humains par leur rémanence, leur mobilité, leur toxicité et leur capacité de se bioaccumuler dans la chaîne trophique. Par conséquent, on peut retrouver des niveaux élevés de ces contaminants dans les poissons, particulièrement les piscivores. Au cours des dernières années, les bénéfices et les risques potentiels pour la santé suite à une consommation régulière de poissons sont au centre des polémiques. Les poissons sont à la fois source de bénéfices nutritifs et de bienfaits sur la santé, ainsi que la principale source d'exposition au mercure et aux BPC. De nombreux effets sur la santé en lien avec ses polluants ont été rapportés par des études épidémiologiques chez les grands consommateurs de poisson. La présente étude faisait partie du projet COMERN (*Collaborative Mercury Research Network*), un réseau pancanadien de recherche sur le mercure. Composé de plusieurs groupes de recherche (sur la santé, l'environnement, l'éducation et la biogéochimie du Hg), ce réseau avait pour objectif d'étudier les sources de mercure, sa transmission dans les écosystèmes et ses impacts sur la santé humaine.

La présente étude a été menée par le groupe de recherche en santé du projet COMERN. Cette équipe a établi le bilan de la consommation de poisson et de l'apport en Hg chez deux populations riveraines provenant de deux écosystèmes différents. Elle a étudié les effets potentiels sur la santé associés à la consommation de poissons et a proposé des mesures permettant de réduire l'apport et l'exposition au Hg afin de maximiser les bienfaits tout en minimisant les risques reliés à la consommation de poisson.

Cette étude transversale d'observation a été menée auprès de deux communautés riveraines provenant de deux écosystèmes différents du Québec: 130 participants du lac Saint-Pierre et 130 participants de 3 lacs de la région de l'Abitibi (Lacs Malartic, Preissac et Duparquet). Un questionnaire auto-administré a servi à collecter des données socio-démographiques. Un questionnaire de fréquences de consommation de poisson d'eau douce, de poisson du marché et de sauvagine a été administré par entrevue. Des prélèvements de sang, et de cheveux ont été collectés pour le dosage du Hg, des métaux (plomb, cadmium et sélénium) et des organochlorés (16 congénères de BPC et 17 pesticides organochlorés). De plus, des mesures anthropométriques (taille et poids) et de pression artérielle ont été effectuées pour chaque participant. Afin d'étudier les effets neurotoxiques de l'exposition

chronique aux faibles doses en Hg et en BPC et pesticides organochlorés, des tests neuropsychomoteurs (cognitifs, moteurs et sensoriels) ont été administrés aux participants. Finalement afin d'étudier l'effet des polluants sur l'homéostasie les hormones thyroïdienne, la *triiodothyronine* (T3), la *thyroxine* (T4) et la *thyroid stimulating hormone* (TSH) ont été mesurées dans le sérum.

Dans un premier temps, nous avons estimé l'apport quotidien en Hg exprimé en  $\mu\text{g Hg/kg}$  poids corporel/jour. Pour ce faire, nous avons utilisé les données des niveaux de Hg dans les poissons pêchés dans les lacs étudiés fournis par l'équipe environnement du COMERN et par le ministère de l'environnement. Pour le poisson du marché et la sauvagine, nous avons utilisé les données publiées au Canada et aux États-Unis. Ces données associées aux quantités de poisson consommées nous ont permis d'estimer l'apport quotidien en mercure pour les deux groupes. Nous avons ensuite examiné la relation entre la consommation du poisson, l'estimation de l'apport en Hg et les biomarqueurs d'exposition au Hg. Les résultats ont montré que les participants du lac Saint-Pierre (LSP), comparativement à ceux de l'Abitibi, consommaient significativement plus de poisson mais présentaient des concentrations de Hg significativement moins élevées aussi bien dans les cheveux que dans le sang. L'apport en Hg chez les participants du LSP était également inférieur à celui des participants de l'Abitibi. Pour les deux groupes, c'est principalement la consommation de poisson d'eau douce qui était positivement associée aux bioindicateurs du Hg. Les estimations des apports journaliers en Hg (provenant de la consommation de poisson d'eau douce et de la consommation totale de poisson) étaient significativement reliées aux biomarqueurs du Hg. Nous avons également observé une relation positive entre la consommation de poisson d'eau douce, l'estimation de l'apport en Hg et le mercure inorganique sanguin. Nos résultats ont démontré que la quantité de poisson exprimée en nombre de repas ou en quantité de poisson, lesquels sont largement utilisés par de nombreuses études, seraient de moins bons bioindicateurs d'exposition au Hg par rapport à l'estimation de l'apport en Hg.

Dans la seconde partie de notre travail, nous avons examiné la relation entre les hormones thyroïdiennes sériques : (T3, T4 et TSH), et les POP sériques, les bioindicateurs du Hg et le plomb sanguin (Pb) chez 211 consommateurs de poissons d'eau douce (124 hommes et 87 femmes). Les niveaux des hormones thyroïdiennes étaient dans l'étendu des valeurs normales. L'analyse des relations stratifiées par genre a montré que les effets observés sur les hormones thyroïdiennes étaient différents selon le sexe: chez les femmes, les concentrations sériques de T3 étaient négativement reliées aux concentrations sériques de différents congénères des BPC ainsi que le *p,p'*-DDE alors qu'aucune relation n'a été observée avec la T4. La TSH était négativement reliée au Pb sanguin. Chez les hommes, par contre, nous avons observé une diminution de la T4 et une augmentation de la TSH en relation avec les BPC et le Hg. En revanche, aucun effet n'a été observé sur la T3. Ces constatations suggèrent que malgré les faibles concentrations, ces contaminants environnementaux



peuvent interférer avec la fonction thyroïdienne et les effets pourraient être différents selon le genre. Ces résultats confirment les recommandations du Groupe de Travail sur les Méthodologies en Évaluation des Risques des Produits Chimiques « *Scientific Group on Methodologies for the Safety Evaluation Chemicals (SGOMSEC)* » qui mettent de l'avant l'importance des effets observés séparément chez les femmes et les hommes en prenant en considération les covariables spécifiques pour chaque genre.

Finalement, afin d'étudier les effets neurotoxiques de l'exposition chronique aux faibles doses en Hg et en POP, nous avons examiné les relations entre les scores des tests cognitifs, moteurs et sensoriels avec les niveaux sériques des POP, et les biomarqueurs du Hg dans le sang et les cheveux. Nous avons également examiné les effets synergiques potentiels entre le Hg et les BPC en prenant en considération toutes les variables pouvant influencer les scores. En premier lieu, nous avons réalisé des analyses statistiques continues sur l'ensemble des participants des deux écosystèmes réunis (N=260). Dans un deuxième temps, afin de vérifier l'hypothèse selon laquelle les effets neurologiques étaient différents selon le genre, nous avons effectué des analyses stratifiées par sexe. Pour les deux analyses, nous n'avons observé aucun effet concluant. Dans un troisième temps, nous avons réalisé des analyses stratifiées selon l'âge (inférieur et supérieur à 50 ans) en nous basant sur l'hypothèse selon laquelle les personnes âgées seraient plus sensibles aux polluants neurotoxiques du fait de leur charge corporelle en polluants et, également, en raison de la baisse de l'activité de la dopamine et de nombreux neurotransmetteurs observée au cours du vieillissement.

Cette analyse a montré que pour l'ensemble des tests, les scores augmentaient significativement avec l'âge. Pour le groupe des moins de 50 ans, il n'existe aucune relation entre les scores des tests neuropsychomoteurs et les biomarqueurs de Hg, les BPC et le *p-p'* DDE. En revanche, pour le groupe d'adultes de plus de 50 ans, la performance à de multiples tests cognitifs était significativement et inversement associée à l'exposition aux BPC alors qu'aucune relation n'a été observée avec les performances motrices. Ces résultats confirmaient notre hypothèse selon laquelle, chez les personnes âgées, les performances neurofonctionnelles, plus particulièrement la fonction cognitive, étaient plus sensibles et plus vulnérables à l'exposition aux polluants neurotoxiques et cela même à de faibles niveaux d'exposition.

Par ailleurs, les niveaux de Hg mesurés étaient de loin inférieurs à ceux d'autres groupes de grands consommateurs de poisson pour lesquels des effets neurotoxiques du Hg ont été observés. Contrairement à ces études, nos résultats ont montré une amélioration significative de différentes performances motrices en relation avec le Hg dans les cheveux et le sang. Ces observations pourraient suggérer un phénomène de compensation précédant, en général, l'installation tardive de troubles de la fonction motrice, associée à l'exposition chronique à de très faibles

doses en Hg. Par ailleurs, nous n'avons pas observé d'effet synergique entre les BPC et le Hg sur les scores des tests neuropsychomoteurs.

Nos travaux ont mis en évidence la perturbation de l'homéostasie de la fonction thyroïdienne ainsi que des effets neurotoxiques à de faibles doses en BPC et en mercure. Depuis plusieurs années, une baisse considérable des niveaux de BPC et de Hg a été observée dans l'environnement et dans les différents médias biologiques. Malgré ces niveaux bas, des effets néfastes ont néanmoins été observés particulièrement chez les personnes âgées. Il serait donc important de promouvoir les études qui oeuvrent à trouver les moyens d'attenuer l'exposition humaines aux polluants et, de soutenir celles qui dénoncent les sources primaires de pollution.

Mots Clés : Mercure, organochlorés, apport en mercure, hormones thyroïdiennes, performances neurologiques

# CHAPITRE I

## INTRODUCTION GÉNÉRALE

### 1. Nature du problème

Depuis son utilisation anthropique, le Hg représente un problème global de santé publique par sa toxicité, sa rémanence dans l'environnement et sa capacité de se bioaccumuler dans la chaîne trophique aquatique sous sa forme organique le méthylmercure (MeHg). Pour l'humain, la consommation de poisson représente la principale source d'exposition au MeHg (Scheuhammer et al., 2007).

Au Canada, en plus des sources naturelles (gisements minéraux, activité volcanique et feux de forêts), les sources anthropiques du Hg sont principalement causées par la déforestation, les rejets des fonderies, la combustion des déchets solides, l'incinération des boues d'égout et des déchets des hôpitaux, la combustion du charbon ainsi que la fabrication du ciment (CCE, 1996). De 1961 à 1970 l'industrie des pâtes et papiers, du chlore et de la soude caustique ont également été largement responsables du rejet de quantités considérables de Hg dans certains réseaux hydrographiques (Environnement Canada, 2000). De nos jours, la production d'électricité, avec 37% d'émission, est la source majeure du Hg au Canada (Environnement Canada, 2007). Néanmoins, avec l'arrêt des importations du Hg et les modifications des procédés chimiques, les émissions anthropiques canadiennes en Hg ont chuté de 35 à 7 tonnes de 1990 à 2003 (Environnement Canada, 2004). Au Québec, une réduction de 33% des émissions de mercure entre 1998 et 2003 a été notée, passant de 1,53 tonne à près d'une tonne. Plus récemment, en 2005, les

émissions de mercure au Québec étaient évaluées à 0,94 tonne, soit une diminution de 38% par rapport à 1998 (MDDEP, 2007)

Malgré cette chute drastique des émissions de Hg, le réseau canadien de mesure du Hg atmosphérique n'a constaté qu'une légère diminution des niveaux de Hg atmosphérique dans différentes régions du Canada. Cette baisse serait d'environ 15% dans les régions près des centres urbains de Toronto et de Montréal, 7% dans les régions rurales de l'Est du Canada, mais aucun changement n'a été noté dans l'Arctique (Environnement Canada, 2007). Ceci pourrait être expliqué par le fait que quelque 120 tonnes de Hg, venant d'outre-mer, se déposent chaque année sur le territoire canadien (CCEAN, 2004; Environnement Canada, 2007). Une moitié serait de sources anthropiques et l'autre proviendrait des océans et des sols sous forme de Hg re-volatilisé. Selon Wangberg et al. (2003), le Hg émis peut se déposer à des distances de centaines voir même de milliers de kilomètres de la source d'émission. On estime qu'environ 19% du Hg de source humaine qui se dépose sur le Canada provient de l'Asie, 11% des États-Unis, 4% de l'Europe et 3,5% de la Russie (Environnement Canada, 2007). Par ailleurs, une estimation des dépôts humides et sec du Hg dans différentes régions du Canada a montré que la région du Sud-est du Canada recevait 22,5 tonnes/an comparativement aux régions du Nord-est avec 12,8 tonnes/an, la région Nord-ouest 14,9 tonnes/an et l'Arctique 6 tonnes/an (Environnement Canada, 2000). Ces dépôts seraient à l'origine du maintien, dans différents écosystèmes et espèces de poisson, des niveaux élevés en Hg.

En effet, depuis 1970, le ministère de l'environnement a mis en place un programme de surveillance des niveaux de Hg dans les poissons de divers lacs et rivières (Environnement Canada, 1996; Laliberté et al., 2004). De 1990 à 1998, des poissons échantillonnés dans près de 68% des lacs du Québec présentaient des teneurs en mercure supérieures à la limite de 0,5 µg/g pour la commercialisation des produits de pêche pour la consommation humaine (MDDEP, 2007; Lockhart et al.,

2005). Cependant, une baisse considérable des concentrations de Hg dans de nombreuses espèces de poissons, provenant du fleuve Saint-Laurent a été constatée. Pour le doré (*Stizostedion vitreum*), une espèce piscivore largement consommée, une baisse de 30% de la charge en Hg a été notée entre 1984 et 1989. Cependant, de 1995 à 2004, les niveaux sont restés relativement stables avec une moyenne de 0,32 µg/g (Laliberté et al., 2004). Il reste toutefois que, dans de nombreux lacs et rivières canadiens, les niveaux mesurés dans plusieurs poissons carnivores restent supérieurs aux concentrations jugées sans danger pour la santé des consommateurs et aux normes de santé Canada pour la mise en marché de produits de la pêche (CCME, 2003; Laliberté et al., 2004). Malgré ce constat, la pêche sportive demeure une activité récréative pratiquée par plus de 25% de la population du Québec (Environnement Canada, 2004).

Selon Statistique Canada, la consommation de poissons a augmenté de 10% de 1991 à 2003 et cet accroissement pourrait atteindre les 40% en 2010 (Bernadette, 2005). Par ailleurs, malgré les réglementations en vigueur, de récents contrôles de poissons du marché canadien ont révélé que des espèces de poissons, principalement les prédateurs tels, le thon et le requin, présentaient des niveaux en Hg supérieurs aux recommandations de Santé Canada (0,5µg/g de poisson) (Dabeka et al., 2004; Forsyth et al., 2004). Les niveaux élevés de Hg dans le thon en conserve, plus particulièrement le thon blanc, peuvent représenter un risque pour la santé des consommateurs, si bien qu'en 2007, Santé Canada a émis des recommandations particulières à l'égard de certains groupes plus vulnérables incluant les femmes enceintes, celles en âge de procréation et les femmes qui allaitent, ainsi que les enfants de moins de 11 ans (Santé Canada, 2007).

Selon Duchesnes et al. (2004), près de 47% des consommateurs de poisson d'eau douce, pratiquent la chasse et consomment leur gibier. De nombreuses espèces chassées au Québec et dans l'Est du Canada, sont exposées aux contaminants durant

leur hivernage ou leurs haltes migratoires dans la région des Grands Lacs (Environnement Canada, 2007). Au Québec, certains animaux ichtyophages, en particulier les oiseaux, présentent des concentrations de Hg relativement élevées (Braune and Malone, 2006; Braune and Noble, 2009; Duchesne et al., 2004). De ce fait, la consommation de sauvagine représenterait également une source supplémentaire en MeHg.

En plus du Hg, le poisson véhicule de nombreux autres polluants tels que les biphényles polychlorés (BPC). Les BPC sont des polluants neurotoxiques qui grâce à leur lipophilie se bioaccumulent dans le poisson et peuvent atteindre des niveaux non négligeables notamment dans les poissons gras (Rawn et al., 2006). Essentiellement d'origine anthropique, les BPC ont été produits pour la première fois en 1881 et de façon industrielle de 1929 à 1970 par les États-Unis d'Amérique, la Russie, l'Allemagne, l'Italie, la France et le Japon (ATSDR, 2000). N'étant pas un producteur de BPC, le Canada a néanmoins importé près de 40 000 tonnes de BPC entre 1930 et 1970. L'importation et la vente des BPC sont devenues illégales en 1977 alors que le rejet de BPC dans l'environnement n'a été interdit qu'en 1985. Cependant, la législation canadienne a permis aux propriétaires de matériel contenant des BPC de continuer à utiliser ce matériel jusqu'à la fin de sa durée utile (Environnement Canada, 2004). En 1987, on estimait que deux mille tonnes de résidus de BPC étaient mobiles dans l'environnement, ils pouvaient alors s'accumuler dans la chaîne alimentaire. Les concentrations en BPC dans le poisson et les animaux ichtyophages sont par conséquent, élevées, entraînant souvent un dépassement des recommandations canadiennes d'exposition quotidienne tolérable aux BPC fixées à  $0,13\mu\text{g}/\text{kg}$  de poids corporel (Santé Canada, 2007).

L'intérêt pour l'étude de la toxicité du Hg sur la santé humaine a beaucoup augmenté au cours des dernières années suite aux catastrophes de Minamata et de l'Irak (Ekino et al., 2007; Eto, 1997; Eto, 2006). La consommation de poissons contaminés par du Hg provenant d'effluents industriels fut la cause de l'intoxication des habitants des deux villages cotiers. En Irak, l'intoxication massive est survenue suite à la consommation de pain fabriqué à partir de semences traitées par un fongicide à base de MeHg. Dans les deux cas, des atteintes neurologiques, souvent irréversibles, ont alors été décrites (Eto, 2006; Bakir et al, 1973). Les enfants nés de mères intoxiquées au MeHg, qui souvent ne montraient aucun symptôme, présentaient des malformations, un faible poids à la naissance, un retard dans la locomotion et l'acquisition du langage, des troubles de coordination ainsi que des déficiences intellectuelles avec retard mental (WHO, 1990).

À la suite de l'accident de l'Irak, la caractérisation de la courbe dose réponse a été établie à partir d'un modèle appliqué aux données recueillies. Il a été estimé qu'environ 200 ppb de Hg dans le sang, correspondant à 50 ug/g de Hg dans les cheveux, pourrait constituer un risque pour la fonction cérébrale et entraîner une augmentation de 5% de l'incidence de la paresthésie (WHO, 1990 ; NRC, 2000). Toutefois, depuis de nombreuses études épidémiologiques ont étudié les effets de l'exposition prénatale au MeHg sur le développement psychomoteur de l'enfant. Les résultats montraient des déficits dans les scores de nombreux tests de développement neuropsychologique chez l'enfant à des niveaux aussi bas que 4 µg/g dans les cheveux maternels (Grandjean et al., 1997). De même, de récentes études réalisées avec différents groupes de grands consommateurs de poissons ont révélé des altérations des performances neurofonctionnelles et ce, à des taux de Hg bien inférieurs aux taux considérés sans danger pour la santé par l'OMS (Carta et al., 2003; Dolbec et al., 2000; Lebel et al., 1998; Lebel et al., 1996; Mergler et al., 1998; Spitzer et al., 1988; Weil et al., 2005; Yokoo et al., 2003).

Par ailleurs, la neurotoxicité des BPC a également été largement documentée suite aux catastrophes de 1968 de Yusho au Japon (Hirota et al., 1995; Kunita et al., 1985; Masuda et al., 1995) et de 1979 à Yu-chen à Taiwan (Olafsson et al., 1988) où, dans les deux cas, de l'huile contaminée aux BPC a été utilisée dans la cuisson d'aliments. Globalement, les études épidémiologiques ultérieures à ces événements, se sont principalement intéressées aux effets sur le neurodéveloppement suite à une exposition *in utero* des enfants nées de mères exposées aux BPC (Oken and Bellinger, 2008). A ce jour, seulement cinq études sur les effets des BPC chez les consommateurs de poisson sont rapportées dans la littérature. Des altérations, principalement cognitives, ont été rapportées (Fitzgerald et al., 2007; Haase et al., 2009; Lin et al., 2008; Schantz et al., 1999; Schantz et al., 2001).

En plus de leurs effets individuels sur les fonctions neuropsychologiques, le Hg et les BPC peuvent agir simultanément sur les mêmes fonctions cérébrales. Des études expérimentales (Bemis and Seegal, 1999; Bemis and Seegal, 2000) et chez les enfants (Grandjean et al., 2001; Stewart et al., 2003), ont rapporté que les BPC, par le biais de phénomènes encore mal élucidés peuvent à de faibles concentrations, interagir avec le MeHg et potentialiser ses effets sur le système nerveux central.

Bien que les effets neurotoxiques, suite à une exposition à de fortes doses en Hg et en BPC soient bien documentés, à nos jours, on connaît moins bien les conséquences d'une exposition régulière à de faibles doses de MeHg et de BPC sur la santé des adultes. Compte tenu que ces deux polluants peuvent interagir sur le système nerveux central, il est impérieux d'étudier leur effets combinés chez les adultes afin de pouvoir agir de façon préventive.



## 2. État des connaissances

### 2.1 Le mercure (Hg)

Le mercure est un métal lourd (PM: 200,59) qui a la particularité d'être liquide et volatil dans des conditions normales de pression et de température. Dans l'environnement, le Hg est présent sous trois formes chimiques: inorganique (HgI), métallique (Hg<sup>0</sup>) et organique appelée méthylmercure (MeHg). Les quatre principales sources naturelles de Hg sont le dégagement de sources géologiques (gisements minéraux, activité volcanique et feux de forêts), le sol et la photo-réduction du Hg bivalent des eaux naturelles (CCE, 1996). Les émissions naturelles en Hg sont estimées à environ 40% des émissions mondiales (EPA, 1997). Néanmoins, depuis l'industrialisation, la quantité de mercure dans l'environnement a quadruplé (Allan, 1996). Selon la Commission de coopération environnementale de l'Amérique du Nord, en 2001, 67,53 tonnes de mercure auraient été émises dans l'atmosphère à l'échelle continentale (Canada, Mexique, États-Unis). Près de 64% (43,38 tonnes) de ces émissions sont attribuables aux centrales au charbon, de l'industrie chimique (7,58 tonnes) et de l'industrie des métaux (6,35 tonnes) (Environnement Canada, 2007).

#### 2.1.1 Cycle du Hg dans l'environnement

Dans l'environnement, le Hg intègre un cycle qui le maintient en circulation entre les différents médias environnementaux. Les particules de Hg inorganiques ou gazeuses libérées dans l'atmosphère peuvent, grâce aux vents, être transportées sur de longues distances (Seigneur et al., 2006; Seigneur et al., 2004). Dans l'atmosphère, le Hg élémentaire (Hg<sup>0</sup>) peut, également, être oxydé en sa forme divalente ionique Hg<sup>2+</sup>

qui peut réagir avec des particules d'eau en suspension dans l'atmosphère pour ensuite être déposée par précipitation sur les sols et dans les milieux aquatiques (Johnsson et al., 2005). À ce moment, sous des conditions de température et de pH, un processus de méthylation est généré par des bactéries sulfato-réductrices qui, par l'ajout d'un groupement méthyle ( $\text{CH}_3$ ) à des éléments du mercure réactif ou oxydé ( $\text{Hg}^{2+}$ ) vont méthylé cette forme de Hg en un composé organo-mercuriel : le méthylmercure (MeHg) (Jensen and Jernelov, 1969; Renzoni et al., 1998).

Pour s'accumuler dans les tissus des poissons, le MeHg se lie aux groupements thiols de la cystéine des protéines de la chair des poissons (Harris et al., 2003) et finit par atteindre des niveaux très élevés particulièrement dans les poissons piscivores et animaux ichtyophages (Ikingura and Akagi, 2003; Kehrig Hdo et al., 2008; Maurice-Bourgoin et al., 2000). Néanmoins, les niveaux en MeHg peuvent être très différents selon les espèces et varier de 57 à 100% (Evans et al., 2005; Muir et al., 2005; Simoneau et al., 2005). Les proportions en MeHg peuvent également varier au sein de la même espèce. En effet, dans divers échantillons de thon, la proportion du Hg total présent sous forme de MeHg s'échelonnait de 61 à 94% alors que dans des échantillons d'espadon et de marlin ce pourcentage variait de 43 à 76% et de 51 à 63% respectivement (Forsyth et al., 2004). Ces différences ont été attribuées à la région géographique, au niveau trophique et à la taille des poissons (Evans et al., 2005; Ganther and Sunde, 2007; Gochfeld and Burger, 2005; Marrugo-Negrete et al., 2008; Simoneau et al., 2005). Il est important de noter que pour certaines espèces de poissons, le mercure inorganique représente également une forme d'accumulation du Hg. En exemple, dans le marlin du pacifique le HgI constitue 50% du Hg total (Schultz et al., 1976).

### 2.1.2 Sources d'exposition et métabolisme du MeHg

L'utilisation du Hg remonte à des millénaires. Le cinabre, forme naturelle du Hg a été utilisé par les chinois dans la fabrication de l'encre rouge et par les égyptiens dans le processus d'embaumement des cadavres (Clarkson, 2002). De nos jours, l'humain est essentiellement exposé au Hg sous trois formes. Le Hg inorganique (HgI) via les amalgames dentaires (Brownawell et al., 2005); aux vapeurs de Hg métallique ( $Hg^0$ ) en milieu industriel et lors du processus d'orpillage (Pranjic et al., 2002) et finalement à la forme organique du Hg, le méthylmercure (MeHg), à travers essentiellement la consommation de poissons (Scheuhammer et al., 2007).

Le Hg est un métal qui n'accomplit aucune fonction physiologique et son mode d'absorption varie selon son état chimique. Le Hg inorganique est absorbé par voie respiratoire ou cutanée (Kazantzis, 2002). Dans les poumons, le mercure, sous forme de vapeur, est rapidement et largement (97%) absorbé (Hursh et al., 1976). Une partie de ce Hg métallique ( $Hg^0$ ) est transformée localement en mercure mercurique ( $Hg^{2+}$ ) qui pénètre dans la circulation générale. Dans le sang, et particulièrement dans les globules rouges, le  $Hg^0$  est rapidement oxydé en  $Hg^{2+}$  par les catalases qui se lient aux protéines, notamment l'hémoglobine, grâce aux groupements sulfhydriles (Halbach and Clarkson, 1978). Le  $Hg^{2+}$  a une demi-vie de 19,7 à 65,6 jours (Inskip and Piotrowski, 1985). La distribution tissulaire se fait rapidement en 2 à 3 heures et les principaux organes ciblés sont les reins et le cerveau (Hursh et al., 1976).

En ce qui concerne la forme organique, une fois ingéré, le MeHg est absorbé à 95% par la paroi gastro-intestinale. Il diffuse dans l'ensemble de l'organisme en quatre jours (Figure 1-1) et se concentre principalement dans les reins et le foie (Clarkson et al., 2007). Environ 5% de la charge corporelle totale se retrouve dans le sang, où il se fixe à 90% à l'hémoglobine des érythrocytes, soit 10 fois plus que dans

le plasma où il se fixe sur des protéines (Kershaw et al., 1980). Dans le tractus gastro-intestinal et dans la rate, une petite fraction du MeHg est déméthylée par la flore intestinale en Hg inorganique qui, ne pouvant être absorbé par la paroi intestinale, sera éliminé dans les selles (Clarkson et al., 2007; Suda and Takahashi, 1992; Suda et al., 1992).

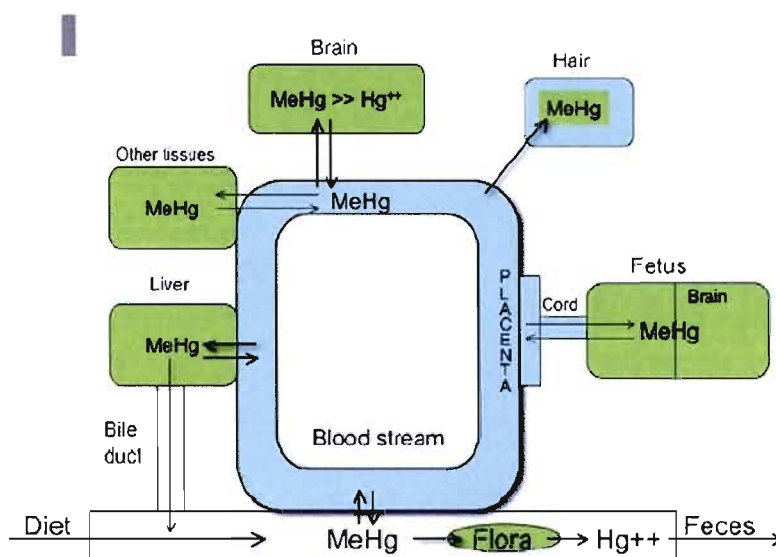


Figure 1-1 Schéma général du métabolisme du Hg chez l'humain (Clarkson et al. 2007).

La demi-vie du MeHg est en moyenne de 70 à 80 jours (Inskip and Piotrowski, 1985), et peut même s'étendre entre 50 et 120 jours (Birke et al., 1972). Cette demi-vie est dépendante de l'âge, du sexe et varie également d'un organe à un autre (Nielsen and Andersen, 1991b).

L'élimination du Hg inorganique est essentiellement rénale, mais on retrouve du Hg dans la salive, les phanères et dans les selles. Il existe aussi une possibilité de passage de  $\text{Hg}^{2+}$  sanguin vers le poumon où une réduction en  $\text{Hg}^0$  permet son élimination dans l'air exhalé. La voie pulmonaire est, cependant une voie mineure d'élimination. Le lait maternel est une autre voie d'élimination du Hg inorganique qui, selon Oskarsson et al. (1998), représenterait environ 51% du Hg total se trouvant dans le lait maternel.

Pour le MeHg, le taux d'excrétion quotidien est d'environ 1% de la charge corporelle totale (NRC, 2000). Environ 80% de l'élimination du MeHg se fait par les fèces sous forme de complexe avec le glutathion (Clarkson and Magos, 2006), néanmoins, la présence d'un cycle entérohépatique ralentit fortement cette élimination. Durant son passage dans la bile, le complexe Cystéine-MeHg-Glutathion ( $\text{CH}_3\text{Hg-S-CysGly}$ ) est hydrolysé par les enzymes gamma glutamyl-transpeptidase et dipeptidase, libérant ainsi le complexe Cystéine-MeHg qui sera réabsorbé et se retrouvera dans la circulation sanguine pour une seconde fois (Dutczak and Ballatori, 1992). À cette voie, il faut ajouter l'élimination de 10% par voie rénale sous forme de  $\text{Hg}^{2+}$  et 10% par les poumons et les cheveux (WHO, 1990). Les cheveux en formation fixent directement le MeHg circulant dans le sang. Le MeHg sera stable pendant plusieurs années en se fixant aux groupements thiols de la kératine (Katz and Katz, 1992). Dans le lait maternel, 16% du Hg total serait sous forme de MeHg dont la concentration moyenne est d'environ 8% de celle du sang maternel (Bakir et al., 1973; Yoshida et al., 1992a).

### 2.1.3 Accumulation et devenir du Hg dans le cerveau

La concentration maximale du MeHg, au niveau du cerveau, n'est atteinte que plusieurs jours après l'ensemble de tous les organes (WHO, 1990). Le ratio cerveau / sang est d'environ 6/1 ce qui correspondrait à environ 10% de la charge corporelle (WHO, 1980 ; NRC. 2000).

Dans le sang, le MeHg, grâce à sa propriété thioloprive, se lie aux groupements sulfhydriles (-SH) des protéines, des acides aminés et des peptides tels que l'énantiomère L-cystéine et le glutathion (Aschner and Aschner, 1990; Clarkson and Magos, 2006). Le complexe MeHg-cystéine (CH<sub>3</sub>Hg-S-Cys) (Figure 1-2) ayant la même structure que la méthionine, la mime, et emprunte son transporteur (Na<sup>+</sup>-indépendant) pour traverser la barrière hémato-encéphalique suivant la cinétique de Michealis-Menton. Le MeHg va ainsi, se distribuer de façon homogène dans l'ensemble du cortex cérébral (Aschner and Aschner, 1990; Clarkson et al., 2007; Kerper et al., 1992).

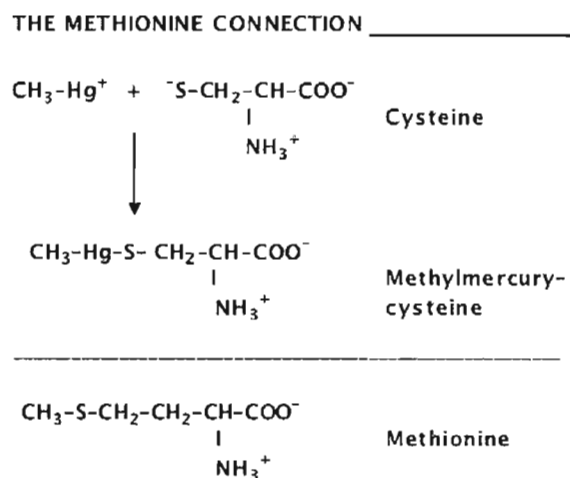


Figure 1-2 Formation chimique du complexe MeHg- Cystéine et structure de la Méthionine (Clarkson et al., 2007).

La demi-vie du MeHg dans le SNC est estimée à plusieurs années (Clarkson, 1997; NRC 2000). En effet, l'autopsie de victimes de Minamata a révélé que les niveaux de Hg inorganique dans le cerveau sont restés élevés même 26 ans après l'exposition (Eto, 1997; Takeuchi et al., 1989). Ceci pourrait s'expliquer par le fait qu'au niveau du SNC, 90 à 100% du MeHg est graduellement déméthylé en HgI (Kozak and Forsberg, 1979; Vahter et al., 1994; Vahter et al., 1995). Le mécanisme de déméthylation reste encore mal élucidé. Le HgI formé ne peut retraverser la membrane hématoencéphalique et s'accumule ainsi au fil des années dans le cerveau (Aschner and Aschner, 1990; Charleston et al., 1994; Vahter et al., 1995). Cependant, suite à une brève exposition à de fortes concentrations en MeHg, la forme prédominante retrouvée dans les différentes structures cérébrales est la forme méthylée (CH<sub>3</sub>Hg<sup>+</sup>) (Vahter et al., 1994).

#### **2.1.4 Mécanismes d'actions toxiques**

L'intérêt pour l'étude des aspects neurobiochimiques et des lésions neuropathologiques du MeHg a beaucoup augmenté suite aux catastrophes de Minamata et de l'Irak. Chez l'humain, le cervelet et le cortex visuel sont les sites d'accumulation et de dommages du MeHg (Clarkson and Magos, 2006; Ekino et al., 2007). Les lésions provoquées par le MeHg au SNC sont engendrées *a priori* par des effets à l'échelle de la cellule neuronale (Eto, 2000). Les dommages de la structure cérébrale sont principalement localisés au niveau de la fissure calcarine du cortex visuel, du gyrus post-central (Clarkson, 1997; Eto, 1997; Eto, 2000), des cellules de la couche granulaire (région du sulci) (Korogi et al., 1998; Korogi et al., 1994; Kunimoto and Suzuki, 1997) et des cellules de Purkinge du cervelet (Choi et al., 1978; Eto, 1997). Il y a apparition d'un œdème cérébral aigu avec nécrose focale des neurones et leur remplacement par des cellules gliales (Eto, 1997; Jacobs et al., 1977).

De nombreux mécanismes neurobiochimiques et moléculaires à l'origine des perturbations et de la dégénérescence des cellules nerveuses ont été élucidés. L'inhibition de la synthèse des protéines est l'un des effets biochimiques précoces observés dans le cerveau (Brookes and Kristt, 1989; Takeuchi, 1982). Le MeHg compromettrait l'intégrité de la barrière hémato-encéphalique par la formation de liens avec la structure protéinique de la membrane cellulaire, entraînant une réduction de l'incorporation des acides aminés dans la cellule et une diminution ou une augmentation anarchique de la synthèse protéique (Brubaker et al., 1973; Hasegawa et al., 1988; Syversen, 1982). Une inhibition de l'activité de la pompe  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  ATPase membranaire de la cellule neuronale (Ballatori et al., 1988; Bondy and Komulainen, 1988) et une baisse des concentrations intracellulaires du calcium ont également été observées *in vitro*. Certaines études étayaient l'hypothèse du stress oxydatif avec inhibition du processus mitotique causé par le MeHg à la cellule nerveuse. Ceci se produisant suite à une induction de la lipopéroxydation des microtubules et une diminution des concentrations d'ARN par inhibition de sa synthèse et/ou la catalyse de sa dégradation dans les cellules affectées (Chang et al., 1977; Valko et al., 2005). Selon Vogel et al. (1985), le MeHg réagirait également avec les composantes cytosquelettiques, en se liant aux groupements thiols des microtubules des cellules neuronales, impliqués dans la division cellulaire, et inhiberait ainsi leur polymérisation. Une dénaturation de la structure mitochondriale des cellules nerveuses (Denny and Atchison, 1994; Lucier et al., 1973) ainsi qu'une baisse des concentrations du glutathion, principal antioxydant de la cellule, ont été notées suite à une exposition au MeHg (Miura and Clarkson, 1993).



### 2.1.5 Effets neurotoxiques du mercure

Dans le cas d'une exposition aiguë ou subaiguë à des niveaux élevés de substances toxiques, les effets peuvent soit être immédiats, soit nécessiter un temps de latence relativement court. Dans ces cas, les signes cliniques ainsi que les lésions engendrées sont apparents et facilement détectables. Cependant, l'exposition chronique à un polluant peut entraîner un continuum d'effets subtils, insidieux et difficilement détectables (Mergler et al., 1996; Sexton, 1991). La prémisse sous-jacente est qu'il existerait un gradient de toxicité selon lequel les effets et les conséquences apparents du point de vue clinique ont une phase sub-clinique, asymptomatique.

Selon le type de contaminant, l'exposition à de faibles niveaux, peut entraîner sur les organes cibles des lésions structurales et des perturbations de l'homéostasie. Cette toxicité sub-clinique n'est pas accompagnée nécessairement de troubles fonctionnels visibles. Cependant, des altérations subtiles peuvent se manifester et être diagnostiquées précocement par des tests sensibles (Anger, 1990). Pour certains polluants, l'arrêt de l'exposition peut entraîner la réversibilité ou la stagnation des lésions présentes (Kazantzis et al., 1976; Roels et al., 1999). Néanmoins, si l'exposition persiste, des lésions physiologiques et, dans le cas de certains polluants comme le Hg, des troubles peuvent se manifester et même devenir irréversibles (Ekino et al., 2007).

Les études portant sur la neurotoxicité du MeHg peuvent être classées en deux catégories selon les niveaux d'exposition: l'exposition à de fortes doses comme celles survenues suite aux accidents de Minamata et de l'Irak, et l'exposition à de plus faibles doses, principalement chez les consommateurs de poisson.

### **2.1.5.1 Exposition à des concentrations élevées**

La neurotoxicité à des niveaux élevés de Hg est bien établie chez les humains et les animaux. Hunter et al. (1940) ont été les premiers à avoir décrit la symptomatologie de l'intoxication au MeHg chez des travailleurs ayant été exposés aux fongicides. Toutefois, les premières études des effets engendrés par un niveau d'exposition élevé en Hg organique, datent des empoisonnements massifs survenus au Japon, à Minamata et Niigata, dans les années 1950 et 1960 et en Irak, en 1970, suite à la consommation de poisson et de farine contaminés au MeHg, respectivement (Ekino et al., 2007; Eto, 2006). Un temps de latence de quelques semaines à quelques mois a été observé chez les adultes contaminés lors des catastrophes de Minamata et de l'Irak (Eto, 1997). Les raisons de ce délai restent encore non élucidés (Inskip and Piotrowski, 1985; Magos and Clarkson, 2006).

Les premiers effets cliniques de la neurotoxicité du MeHg se manifestent par des désordres sensoriels et moteurs (Magos and Clarkson, 2006; Rice and Gilbert, 1990) et les premiers signes se traduisent par une neuropathie périphérique incluant une altération des fonctions somatosensorielles avec apparition d'une paresthésie au niveau des lèvres et des extrémités distales (Bakir et al., 1973; Kazantzis, 2002). Surviennent ensuite un rétrécissement concentrique du champ visuel, des troubles de la sensibilité, une ataxie, des troubles de langage et une baisse de l'acuité auditive allant jusqu'à la surdité (Inskip and Piotrowski, 1985). Suite à ces troubles, se développent une neurasthénie, une perte de la coordination motrice, une rigidité musculaire avec perte de l'équilibre, une spasticité et une totale ataxie avec dysarthrie (Bakir et al., 1973; Kazantzis et al., 1976). Dans les cas critiques, des tremblements myocloniques et des mouvements choréiques sont présents, lesquels conduisent le plus souvent au coma et à la mort (Uchino et al., 1995). Chez les cas sévères de la maladie de Minamata, ces troubles et dysfonctions sont restés visibles 20 ans après leurs apparitions (Yoshida et al., 1992b).

Le MeHg traverse la barrière placentaire et est fœtotoxique et tératogène. La concentration en MeHg dans le cerveau fœtal est de 5 à 7 fois celle du sang maternelle (Cernichiari et al., 1995a). Le système nerveux en développement est plus vulnérable aux effets du MeHg que celui des adultes (Castoldi et al., 2008) et contrairement aux altérations cérébrales localisées chez l'adulte, dans le jeune cerveau en pleine période de croissance, les lésions produites sont beaucoup plus diffuses et étendues. Ainsi à Minamata les mères exposées durant leur grossesse et n'ayant eu aucun symptôme ou des paresthésies transitoires ont donné naissance à des enfants avec des malformations, des retards psychomoteurs et staturo-pondéraux (Uchino et al., 1995).

#### **2.1.5.2 Neurotoxicité de l'exposition faible et continue**

Des études épidémiologiques, menées chez des grands consommateurs de poisson, ont révélé que les niveaux préconisés par l'OMS, 200 ppb de Hg dans le sang, équivalent à 50 ug/g de Hg dans les cheveux, ne sont aucunement protecteurs pour la santé des consommateurs de poissons. En effet, des taux inférieurs à 50 ug/g de Hg dans les cheveux sont associés à des troubles visuels tels la perte de la discrimination chromatique et de la sensibilité aux contrastes et le rétrécissement du champ visuel (Lebel et al., 1998; Lebel et al., 1996), des altérations des performances motrices (trouble de coordination du mouvement, tremblement, dextérité fine, coordination œil-main) (Carta et al., 2003; Dolbec et al., 2000; Lebel et al., 1996; Yokoo et al., 2003, Beuter et al., 1999) ainsi que des troubles cognitifs (Yokoo et al., 2003).

Dans la population générale, Weil et al. (2005) ont observé, chez un groupe de personnes âgées de 50 à 70 ans, dont les niveaux de Hg sanguins étaient en moyenne de 2,1 µg/l, une diminution de la mémoire visuelle avec, paradoxalement, une amélioration de la vitesse motrice et de la dextérité fine. Il est important de noter que pour cette dernière étude, les concentrations sanguines en Hg étaient inférieures à celles des études des grands consommateurs de poissons citées plus hauts.

### **2.1.6 Études canadiennes**

Au Canada, les études entreprises chez les consommateurs de poissons traitent essentiellement de deux problématiques celles des peuples autochtones pour lesquels la consommation de poisson représente la majeure partie de leur régime alimentaire traditionnel (Chan et al., 1999; Poissant et al., 2008) et celles des pêcheurs sportifs exposés au Hg via une consommation excessive de poisson d'eau douce.

En 1983, McKeown-Eyssen et Ruedy. (1983a) et McKeown-Eyssen et Ruedy. (1983b) ont observé, chez la communauté Cri de la Baie James, une incoordination de mouvements, des tremblements, et des réflexes anormaux associés à leur niveau d'exposition au Hg. Quelques années plus tard, on notait une baisse des niveaux de Hg dans les cheveux des Cri. Le pourcentage de personnes dont les concentrations de Hg dans les cheveux dépassaient 15 µg/g était passé de 14,2% en 1988 à 2,7% en 1993-94 (Dumont et al., 1998). Malgré ce fait, des troubles moteurs (Beuter et al., 1999; Beuter and Edwards, 1998) ainsi que des modifications de la coordination visuelle et des caractéristiques du mouvement de l'œil (Beuter and Edwards, 2004) étaient toujours observés. Il est important de noter que pour ces groupes de Cris, les niveaux de Hg dans les cheveux ne dépassaient pas les 50 ppm. Par ailleurs chez les

Inuits, l'exposition au Hg était reliée à troubles neuromoteurs chez les enfants (Despres et al., 2005; Weihe et al., 2002).

Plus au sud du Québec, la majorité des études ont ciblé les pêcheurs sportifs du Saint-Laurent qui, en raison de leur consommation massive de poisson d'eau douce, constituent un sous-groupe de la population fortement exposé au MeHg. Dans la majorité des études, les biomarqueurs de Hg augmentaient avec la consommation de poisson (Kosatsky et al., 2000; Mahaffey and Mergler, 1998; Morrissette et al., 2004). Mergler et al. (1998) ont été les premiers à noter des troubles cognitifs chez les consommateurs de poissons du fleuve St-Laurent. Plus récemment, Stamler et al. (2006) ont observé une diminution des niveaux de la monoamine oxydase sérique (MAO-B) en relation avec l'augmentation du Hg sanguin chez un groupe de consommateurs de poisson du lac Saint-Pierre. La MAO est une enzyme qui régule la déamination des neurotransmetteurs aminés (sérotonine, dopamine et noradrénaline) au niveau du système nerveux central (Stamler et al., 2006).

### **2.1.7 Recommandations de l'exposition au mercure**

Au cours des dernières années, de nombreuses agences gouvernementales ont révisé leurs recommandations des doses journalières admissibles en Hg, sans effets sur la santé des consommateurs de poisson, en se basant sur de récentes études épidémiologiques qui ont étudié les effets du MeHg sur le neurodéveloppement du fœtus et le développement des nourrissons (Mahaffey, 1999; Rice et al., 2003; NRC, 2000; US EPA, 2007). En 2003, le comité d'experts réunis sous l'égide de l'Organisation Mondiale de la Santé et du Programme alimentaire mondial de l'Organisation des Nations Unies, a revu à la baisse sa dose journalière admissible en MeHg de 0,47 à 0,23  $\mu\text{g}/\text{kg}$  poids corporel/jour (JECFA, 2003). Par ailleurs, l'agence

de protection environnementale des États-Unis (US EPA) a adopté une dose de référence du MeHg (RfD) équivalente à un apport de 0,1 µg/kg poids corporel/jour. (US EPA, 2003). Au Canada la dose journalière recommandée par Santé Canada a été évaluée à 0,47 µg/kg poids corporel/jour pour les adultes et à 0,2 µg/kg poids corporel/jour pour les enfants et les femmes en âge de procréation (Santé Canada, 1998).

Santé Canada a également émis des recommandations pour les bioindicateurs de Hg dans le sang et les cheveux. Des niveaux de Hg inférieurs à 6 µg/g et 20 µg/l respectivement dans les cheveux et le sang total, sont jugés sans danger pour la santé. Un risque croissant est possible à des niveaux entre 6 et 30 µg/g dans les cheveux ou entre 20 et 100 µg/l dans le sang total alors que des concentrations de Hg dépassant 30 µg/g dans les cheveux ou 100 µg/l dans le sang total pourraient entraîner des problèmes neurologiques (Santé Canada, 2007).

Plus récemment, Santé Canada a révisé ses normes sur le mercure dans le poisson pour certaines espèces piscivores passant de 0,05 ppm/g à 1 ppm/g. Cette nouvelle norme de commercialisation s'appliquait aux espèces suivantes: thon, requin, espadon, escolar, voilier et hoplostète orange, frais ou congelés. D'autres poissons, comme le thon en conserve, demeurent assujettis à la norme de 0,5 partie par million (Santé Canada, 2007).

## 2.2 Les Biphénylspolychlorés (BPC)

Essentiellement d'origine anthropique, les BPC étaient largement utilisés, notamment comme fluide diélectrique dans les systèmes de transmission (transformateurs, condensateurs), lubrifiants hydrauliques, ignifuges, joints, plastifiants, extendeurs de pesticides. En Amérique du Nord, la production et la transformation des BPC ont cessé en 1979; toutefois, on estime qu'avant ces restrictions, environ 370 000 tonnes ont été rejetées dans toute la planète (Environnement Canada, 2005).

Chimiquement, les BPC ( $C_{12}H_{10-n}Cl_n$ ) sont constitués de 2 groupements phényles portant 1 à 10 atomes de chlore (figure 1.3). Selon le nombre d'atomes de chlores et leur emplacement, ils forment 209 congénères avec des propriétés différentes et par conséquent un mode d'action toxicologique différent.

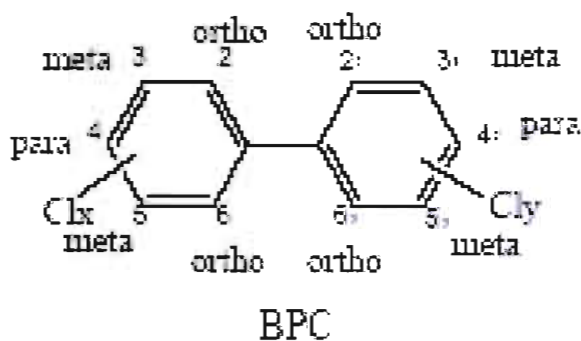


Figure 1-3 Structure chimique d'une molécule de BPC

Les différents congénères sont classés en 2 grandes familles: les coplanaires ou para et méta substitués, et les non-coplanaires ou ortho substitués (ATSDR, 2000). En 2001, les BPC ont été classés parmi les 12 polluants organiques persistants (POP)

(aldrine, chlordane, dioxines et furanes polychlorés, DDT, dieldrine, endrine, heptachlore, hexachlorobenzène, mirex, polychlorobiphényles (BPC) et toxaphène) interdits de fabrication et d'utilisation par la Convention de Stockholm sur les POP (PNUE. 2001).

### **2.2.1 Sources d'exposition aux BPC**

Bannis en 1977, les BPC n'ont pas pour autant disparus, puisque même trente ans plus tard, ils restent détectables à tous les niveaux de la chaîne alimentaire. Les BPC sont extrêmement stables et relativement résistants au feu. Ils se caractérisent par leur lipophilie, qui augmente avec le nombre de chlore, leur volatilité, et leur résistance à la dégradation, les prédisposant ainsi à une longue rémanence dans l'environnement et à un transport sur de grandes distances (Carrier, 1986). Par exemple, la contamination des écosystèmes, où les BPC n'ont jamais été utilisés, est un problème important pour plusieurs communautés autochtone du nord (Fisk et al., 2005; Hung et al., 2005). Cette contamination est alimentée par le phénomène dit «d'effet sauterelle» qui fait intervenir de multiples cycles d'évaporation et de condensation. Sous l'influence du climat froid le processus d'évaporation de ces polluants est ralenti, entraînant une condensation des BPC et leur dépôt sur les sols et dans les eaux (Beyer and Biziuk, 2009).

C'est en 1966 que le chimiste Jensen en étudiant le DDT découvrit pour la première fois la présence de BPC dans la chair de poisson (Jensen et al., 1969). Cette découverte démontrait la capacité des BPC d'intégrer la chaîne alimentaire. En effet, les BPC sont liposolubles et se bioaccumulent dans les tissus adipeux, ce qui les rend susceptibles d'atteindre, dans la chaîne alimentaire, et notamment dans les poissons des concentrations préoccupantes sur le plan toxicologique. Chez les grands



consommateurs de poisson, les niveaux de BPC dans le sang sont positivement corrélés à la consommation de poisson (Fitzgerald et al., 2004; Kosatsky et al., 1999; Persky et al., 2001; Turyk et al., 2006a). Par ailleurs, les BPC se retrouvent également dans tous les médias de l'environnement (ATSDR, 2000); ainsi que dans certains produits alimentaires tel que le lait (Weiss, 2000) et la viande (Huwe and Larsen, 2005; O'Keefe et al., 2006).

### **2.2.2 Métabolisme et toxicocinétique des BPC**

Les BPC peuvent être absorbés par voies pulmonaire et cutanée en milieu professionnel (Franchini et al., 2004; Wolff, 1985), et par la voie orale via l'alimentation. La voie orale est, selon Duarte-Davidson et Jones (1994), la principale voie d'absorption pour la population générale et, est estimée à environ 80% de la quantité totale de BPC absorbée par jour (Moser and McLachlan, 2001). Une fois ingérés, les BPC traversent la paroi gastro-intestinale par un passage passif qui varie entre 66% et 96% et diminue avec l'augmentation du nombre d'atomes de chlore (Schlummer et al., 1998). Dans le sang, ils se lient aux fractions lipoprotéiques et vont s'accumuler dans les tissus adipeux, et le foie. Il est important de noter que la fraction des BPC liée aux lipides plasmatiques est équivalente à celle retrouvée dans les tissus adipeux (Brown and Lawton, 1984).

Les BPC sont difficilement et lentement métabolisés (Schnellmann et al., 1983). Leur demi-vie dépend du nombre de chlore et leur isomérisation et peut varier selon les congénères de quelques mois à quelques années (Shirai and Kissel, 1996; Yakushiji et al., 1984). Généralement, le métabolisme des BPC se fait dans le foie par le biais du système mono oxygénase microsomiale catalysé par le cytochrome P-450. (Brown et al., 1994). Les métabolites époxydes formés sont alors hydroxylés (OH-

BPC) et ensuite conjugués au glutathion ou à l'acide glucuronique (Lotti, 2003). La méthylsulfonation par le biais de l'acide mercapturique est une autre voie de métabolisation des BPC (Guvenius et al., 2002).

Les BPC sont principalement éliminés par les fèces et, dans le cas des métabolites hydroxylés, dans les urines (Lotti, 2003). Les BPC sont également présents dans le lait maternel qui représente une autre voie d'élimination chez les femmes, mais une voie d'exposition pour les nouveau-nés (Rogan et al., 1986).

### **2.2.3 Toxicité des BPC**

La plupart des connaissances relatives aux effets des BPC sur la santé humaine se fondent sur l'exposition lors de rejets accidentels ou d'activités professionnelles (Ross, 2004). Ces niveaux d'exposition sont beaucoup plus élevés que ceux généralement détectés dans l'environnement et auxquels est exposée la population générale (Carpenter, 2006). Parmi les effets indésirables observés, notons: des anomalies cutané muqueuses avec une forme grave d'acné (chloracné), le gonflement des paupières, la décoloration des ongles et de la peau, l'engourdissement des bras ou des jambes, la faiblesse, des spasmes musculaires, une bronchite chronique et des troubles du système nerveux (Chia and Chu, 1985). De plus, certaines données portent à croire qu'il existe un lien entre l'exposition prolongée à de fortes concentrations de BPC en milieu de travail et l'incidence accrue du cancer (Golden and Kimbrough, 2009), particulièrement des cancers du foie et du rein (Bosetti et al., 2003; Negri et al., 2003).

Suite aux catastrophes de Yusho (Japon) et de Yu-chen (Taiwan) où, dans les deux cas, de l'huile contaminée aux BPC a été utilisée dans la cuisson d'aliments, les

personnes intoxiquées ont développé une chloracné, un écoulement oculaire, des troubles de la vision et de l'ouïe, des œdèmes, des troubles gastro-intestinaux systémiques accompagnés de jaunisse et des douleurs abdominales (Masuda et al., 1995, Kuratsune et al., 1972). Chez les adultes, la majorité des signes avaient disparus après plusieurs années, cependant à long terme, on nota que les enfants exposés *in utero* présentaient de faibles poids à la naissance, des troubles moteurs (ataxie, trouble de la coordination, perte de réflexe), des troubles cognitifs avec difficulté de concentration et d'apprentissage, une diminution du QI et des troubles d'attention ((Boucher et al., 2009; Jorissen, 2007).

Des études expérimentales chez le singe (Rice and Gilbert, 1990; Rice and Hayward, 1997) et chez le rat (Holene et al., 1998; Lilienthal and Winneke, 1991; Nguon et al., 2005; Sugawara et al., 2006) ont reproduit et confirmé l'ensemble des atteintes observées chez les enfants. Notons que les troubles observés chez les rats ont persisté jusqu'à l'âge adulte (Sugawara et al., 2006).

Suite aux deux catastrophes mentionnées ci-haut, la majorité des études publiées traitaient principalement de l'exposition *in utero* et visaient à estimer l'exposition de la mère et du fœtus et à examiner les relations avec les mesures détaillées des fonctions neuropsychomotrices (Jorissen, 2007). Toutefois, très peu d'informations existent sur les effets neurologiques chez les adultes. À nos jours, il n'existerait que cinq études qui ont analysé les effets neurotoxiques des BPC chez des personnes adultes. Schantz et al. (2001) ont observé des troubles de mémoire et d'apprentissage chez des adultes (50-90 ans) exposés au BPC via la consommation de poisson du Lac Michigan. Cependant, aucune modification de la fonction visuo-spatiale ou des performances motrices n'a été notée (Schantz et al., 1999). Dans un autre groupe d'adultes (55-74 ans), consommateurs de poisson de la rivière d'Hudson dans l'état de New-York, des troubles de la mémoire et de la capacité d'apprentissage ainsi qu'une augmentation des syndromes dépressifs en lien avec l'exposition aux

BPC ont été rapportés (Fitzgerald et al., 2008). Lin et al. (2008) ont été les premiers à avoir observé un effet spécifique par genre dans un groupe de 162 adultes exposés simultanément aux BPC et aux polychlorodibenzofuranes (PCDFs). Une baisse, dose-dépendante, de l'attention, de la mémoire et de la capacité d'apprentissage a été observée seulement chez les femmes alors qu'aucune altération n'a été notée chez les hommes. Haase et al. (2009) ont mené une étude chez un groupe de 353 Mohawks âgés entre 17 et 79 ans et habitant à proximité d'un site d'enfouissement sanitaire. Des désordres dans les fonctions exécutives et motrices ainsi que des troubles de la mémoire ont été observés seulement dans le sous- groupe âgé de 37 à 79 ans.

#### **2.2.4 Mécanismes d'action toxique des BPC**

Le potentiel toxique des congénères de BPC et leurs sites d'action diffèrent selon le nombre d'atomes de chlore et leurs configurations (Faroon et al., 2001). Plusieurs hypothèses sur les mécanismes d'action des BPC ont été avancées. L'altération neurobiochimique la plus souvent observée suite à une exposition aux BPC coplanaires mais, plus particulièrement, aux congénères non-coplanaires, est la diminution des concentrations de dopamine. En effet, une baisse des taux de dopamine bio-disponible *in-vitro* (Angus and Contreras, 1996; Bemis and Seegal, 2004; Honma et al., 2009) et *in-vivo* dans différentes régions du cerveau chez l'animal (Roegge and Schantz, 2006; Seegal, 1996; Seegal et al., 2002) est rapportée. Cette baisse de la dopamine est expliquée par (1) l'inhibition sélective du transporteur des monoamines vésiculaires (VMAT-2) qui a pour principal rôle la régulation des niveaux intracellulaires des neurotransmetteurs (dopamine, sérotonine et noradrénaline) au niveau des terminaisons nerveuses (Mariussen et al., 1999) et (2) l'inhibition du transporteur membranaire de la dopamine (Mariussen et al., 2001; Mariussen and Fonnum, 2001). Les BPC entraîneraient également une perturbation de

l'équilibre calcique intracellulaire des neurones (Inglefield et al., 2001; Mundy et al., 1999; Tilson and Kodavanti, 1997). Par ailleurs, les congénères coplanaires ont une affinité pour le récepteur Ah du groupement aryle hydrocarboné, qu'ils stimulent par activation de l'expression de l'iso-enzyme CYP1A entraînant un effet antioestrogénique similaire à celui des dioxines (Chen and Bunce, 2004).

La perturbation de l'homéostasie des hormones thyroïdiennes (HT) est le mécanisme commun à tous les congénères de BPC (Brouwer et al., 1998; Langer, 2008). Les troubles de l'homéostasie des HT ont été observés aussi bien en expérimentation (Ulbrich and Stahlmann, 2004) que chez l'humain (Salay and Garabrant, 2009). Les BPC affectent la régulation du mécanisme de rétroaction "Feed-back" par diminution des T3 ou T4 au niveau de l'axe hypothalamo-pituitaire thyroïdien (Boas et al., 2006). Physiologiquement, cette perturbation des HT est élucidée par différents mécanismes, (i) diminution de la synthèse de T4 par inhibition directe de la thyroïde (Barter and Klaassen, 1994; Goldey et al., 1995) (ii) activation du métabolisme de T4 par l'uridile diphosphate glucuronyltransferase (UDPGT), une enzyme hépatique qui catalyse la glucuronisation de la T4 (Van Birgelen et al., 1995; van Raaij et al., 1993b; Zhou et al., 2001), (iii) altération de l'activité de la déiodinase (Gould et al., 1999; Wade et al., 2002), (iv) inhibition de la sulfatation des HT (Schoor et al., 1998a; Schoor et al., 1998b), (v) compétition avec la T4 de certains congénères et métabolites hydroxylés des BPC, en la substitution au niveau des protéines de transport « *TH-transporter transthyretin* » (Cheek et al., 1999; Meerts et al., 2002) et (vi) fixation des BPC aux récepteurs des HT et modulation de la transcription (Miyazaki et al., 2004).

### 2.3 Interaction entre le Hg et BPC

Dans la vie courante, la population générale est exposée à un mélange de polluants. Des phénomènes d'interactions entre les différents agents toxiques peuvent avoir lieu au niveau de la toxicocinétique et/ou de la toxicodynamique (Gennings et al., 2005, Weihe et al., 1996).

Plusieurs études expérimentales ont exploré les interactions possibles entre le MeHg et les BPC. Sur le plan neurobiochimique, *in vitro*, de faibles concentrations de MeHg et BPC entraînaient par synergie une perturbation de l'équilibre calcique intracellulaire (Bemis and Seegal, 2000), des modifications des niveaux de dopamine biodisponible (Bemis and Seegal, 1999; Bemis and Seegal, 2004). Une perturbation de la fonction des récepteurs muscariniques cholinergiques avec troubles de la transmission monoaminergique (Coccini et al., 2007) et une diminution de l'activité de la super oxyde dismutase avec catalyse du stress oxydatif (Cheng et al., 2009) étaient également notés alors qu'aucun changement anatomique n'a été observé pour les cellules de Purkinje ou le cervelet des souris exposées aux MeHg et BPC (Roegge et al., 2006).

Le cervelet est le centre nerveux chargé de la coordination fine des mouvements incluant l'équilibre et la coordination des mouvements volontaires. Chez l'animal le cervelet serait l'organe cible du MeHg et des BPC simultanément ce qui expliquerait les symptômes de dysfonctions motrices manifestés suite à l'intoxication par ces deux polluants (Roegge et al., 2006; Roegge et al., 2004; Widholm et al., 2004). Les études ayant observé l'effet combiné du MeHg et des BPC sur des souris, ont rapporté des effets additifs sur les troubles de coordination, le déséquilibre et la diminution du temps de réaction (Fischer et al., 2008; Roegge and Schantz, 2006; Roegge et al., 2004) de même que de l'hyperactivité (Cheng et al., 2009).

Dans un autre contexte, en étudiant les troubles de la thyroïde, Wren et al. (1987) se sont intéressés à l'étude des effets combinés des BPC et de MeHg sur la fonction et la structure de la thyroïde chez des visons. Aucune interaction n'a été observée. Cependant, ils ont conclu à un effet synergique sur la mortalité post-natale des progénitures de vison (Wren et al., 1987a; Wren et al., 1987b).

La majorité des études portant sur ces interactions ont été réalisées chez l'animal avec des niveaux d'exposition élevés, si bien que l'interprétation des résultats et l'extrapolation aux situations réelles restent souvent difficiles sinon impossibles. Néanmoins, chez l'humain, deux études seulement ont étudié les effets combinés des deux polluants et ont rapporté des effets synergiques entre le MeHg et les BPC. Ces études ont été conduites dans le but d'investiguer les risques neurodéveloppementaux associés avec une exposition chronique à faible niveaux de Hg et de BPC. Dans son étude chez des enfants des Iles Faraoe, Grandjean et al. (2001) ont classé les enfants selon leur niveau d'exposition au Hg et aux BPC. Ils ont noté que les altérations motrices et cognitives dues à l'exposition aux BPC étaient présentes seulement chez le groupe avec le tertile le plus élevé en MeHg. Par ailleurs, la deuxième étude réalisée dans la région d'Oswego dans l'État de New York visait à étudier les effets des BPC et du Hg sur le développement des enfants dont les mères ont consommé de grandes quantités de poisson pendant la grossesse (Stewart et al., 2003). La même procédure statistique que celle de Grandjean et al. (2001) a été appliquée. Pour cette cohorte c'est plutôt le groupe d'enfants avec les niveaux les plus élevés en BPC qui présentait les scores les plus faibles au test de McCarthy. Il est important de noter que les niveaux d'exposition aux BPC de cette dernière étude sont représentatifs de ceux de la population générale des États-Unis.

Au vu de la revue de littérature précédente nous avons peu d'informations sur : (1) l'apport en Hg selon les différentes sources en Hg (poisson d'eau douce, poisson du marché et sauvagine) chez les grands consommateurs de poisson, (2) les effets sur la santé suite à une exposition chronique à de faibles concentrations en Hg et en BPC et (3) les potentiels effets combinés du MeHg et des BPC sur les performances neuropsychologiques chez les adultes.



### **3. Hypothèses et objectifs de la présente thèse**

#### **3.1 Hypothèse de recherche**

Les hypothèses élaborées pour cette étude sont:

- 1) L'apport et les biomarqueurs d'exposition au Hg varient selon la quantité et l'espèce de poisson consommées.
- 3) Les BPC, même à des niveaux très faibles, perturberaient l'homéostasie des hormones thyroïdiennes.
- 2) L'exposition chronique à de faibles doses de MeHg et des BPC, peut entraîner des altérations des performances neurofonctionnelles chez les adultes.
- 4) Il existerait des interactions d'effets neurotoxiques entre les BPC et le MeHg.

#### **3.2 Objectifs spécifiques de l'étude**

Afin de valider nos hypothèses, nous avons entrepris une étude auprès de deux communautés consommateurs de poissons d'eau douce d'un lac fluvial du Saint-Laurent et des lacs en Abitibi. Les objectifs spécifiques étaient:

- 1) Établir le profil de consommation du poisson d'eau douce local et du poisson du marché;
- 2) Estimer l'apport journalier en Hg selon l'espèce et la provenance du poisson et de la sauvagine consommés;

- 3) Mesurer les bioindicateurs d'exposition au Hg (sang et cheveux) et aux organochlorés sériques (OC) (BPC et pesticides organochlorés)
- 4) Déterminer la relation entre les biomarqueurs d'exposition au Hg et la consommation des poissons locaux et du marché en tenant en compte des variables sociodémographiques et d'autres métaux (Pb, Mn, Cd, Se);
- 5) Examiner la relation entre les hormones thyroïdiennes et les OC.
- 6) Examiner la relation entre les niveaux d'exposition aux Hg et aux OC et les performances des tests moteurs, sensoriels et cognitifs;
- 7) Explorer les interactions entre les niveaux d'exposition au Hg et aux OC sur les scores des tests moteurs, sensoriels et cognitifs;

#### **4. Considérations méthodologiques**

La présente étude fait partie du projet pancanadien le COMERN (Collaborative Mercury Network), qui a étudié le cycle biogéochimique du Hg en lien avec la santé humaine dans différents écosystèmes. Cette étude a adopté l'approche écosystémique à la santé humaine pour explorer les effets sur la santé de l'introduction anthropique du Hg dans l'environnement.

Selon Forget et Lebel (2003) «La santé ne peut être considérée de manière isolée. Elle est étroitement liée à la qualité de l'environnement dans lequel les gens évoluent». En effet, dans les études en santé environnementale, des interactions subtiles et complexes lient les multiples composantes environnementales, génétiques, sociales et culturelles. Dans de telles conditions, l'approche écosystémique transdisciplinaire est, comparativement à l'approche classique unidisciplinaire, mieux adaptée. Cette approche participative a permis l'implication des scientifiques de différentes disciplines ainsi que des communautés, dans les différents processus de

recherche incluant la prise des décisions qui permettaient la diminution de l'exposition au Hg des communautés.

#### 4.1 Recrutement et constitution de l'échantillon

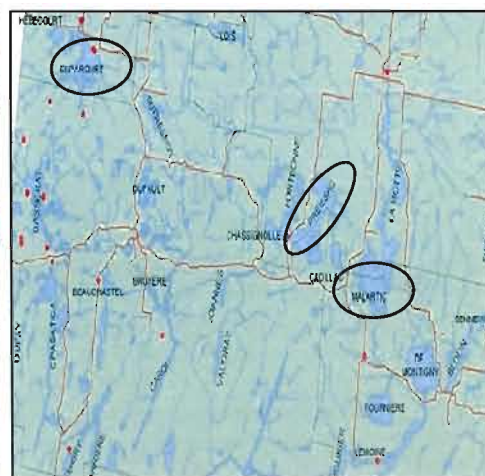
Il s'agit d'une étude épidémiologique de type transversal qui a ciblé deux groupes de consommateurs de poissons locaux provenant de 2 écosystèmes canadiens: un lac fluvial du St-Laurent (Lac St-Pierre : carte-1) et 3 lacs de la forêt boréale (lacs Duparquet, Malartic et Preissac : carte-2) (Figure 1-4). Le recrutement visait 260 sujets et, a été fait selon la méthode d'échantillonnage de convenance non probabiliste basée sur la volonté de participation des sujets (Kelly et al., 2002; Sousa et al., 2004).

Figure 1-4 Lacs à l'étude dans les deux écosystèmes

Carte-1 : Lac St -Pierre (LSP)



Carte-2 : Lacs Duparquet, Malartic et Preissac.



Pour cette étude, les critères d'inclusion étaient (1) l'âge, supérieur à 18 ans, et (2) la consommation des poissons d'eau douce locaux. Le premier groupe (130 sujets) a été recruté en collaboration avec l'association de pêcheurs du lac Saint-Pierre (LSP) et de la zone d'intervention prioritaire (ZIP) de la région de Sorel-Tracy. Le second groupe (130 sujets) a été recruté grâce aux associations de pêcheurs et aux communiqués dans les journaux locaux. Le projet a été présenté durant des rencontres avec les membres des associations des pêcheurs des deux régions. Des lettres explicatives du projet ont été envoyées à l'ensemble des membres. Les personnes intéressées à participer au projet ont été invitées à nous retourner la lettre d'acceptation préalablement incluse dans la missive. Tous les candidats ont été contactés afin de vérifier avec eux leur éligibilité et les informer du déroulement de l'étude. Un mois avant le début de la collecte de données, les personnes ont été contactées par téléphone pour les informer des dates du déroulement des rencontres et éventuellement fixer les rendez-vous avec eux. La veille de la rencontre, les personnes ont été recontactées pour confirmer le lieu et l'heure de leur rendez-vous.

#### **4.2 Déroulement de la rencontre avec les participants**

Les rencontres ont été effectuées durant 4 semaines dans chaque région, du mois de mars au mois de d'avril 2003 au LSP et du mois de juillet au mois d'août en Abitibi. Pour l'étude du LSP, une maison située à proximité des lieux de résidence des participants a été louée afin de les y accueillir et de procéder à leur évaluation et à l'administration des questionnaires. En Abitibi, les autorités locales nous ont offert les locaux du collège de Rouyn Noranda. Pour l'ensemble des participants, trois cases-horaires étaient disponibles: 9h00-12h00, 13h00-16h00 et 18h00-21h00 et les rencontres ont été programmées selon la disponibilité des participants.

A l'accueil, une explication globale de l'étude a été donnée et un formulaire de consentement a été signé par chaque participant. Les participants ont été rencontrés individuellement et la durée moyenne des rencontres était de 3 heures et demie durant lesquelles ils passaient par 6 postes de travail différents (Tableau 1.1).

Les tests moteurs et sensoriels ont été administrés par les mêmes personnes alors, pour les tests cognitifs, l'administrateur a changé entre les deux études. Ce changement a été pris en considération lors des analyses statistiques.

Tableau 1.1 Organisation des postes de travail

Poste 1	Poste 2	Poste 3	Poste 4	Poste 5	Poste 6
Questionnaire fréquence alimentaire (FFQ)	Questionnaire Sociodémographique	-Prélèvement Sang Cheveux - Mesures Taille, poids Pression artérielle - Inventaire des médicaments	Tests moteurs	Tests sensoriels	Tests cognitifs
30 min	30 min	30 min	30 min	20 min	40 min

### 4.3 Choix des bioindicateurs d'exposition

Le tableau 1.2 résume le matériel nécessaire au prélèvement ainsi que les méthodes de dosage selon les différents types d'échantillons et de biomarqueurs d'exposition et d'effet.

### 4.3.1 Hg des cheveux

L'analyse des cheveux est un moyen non invasif pour la mesure de l'exposition au MeHg. Ils constituent une matrice stable, facile à prélever et à conserver sur de longues périodes de temps (Katz and Katz, 1992). Les cheveux poussent en moyenne de 1 cm par mois avec une étendue de (0,6-1,5cm) pouvant varier avec l'âge, le sexe, la race et la saison (Nielsen and Andersen, 1991a; Nielsen and Andersen, 1991b). En moyenne 95% du Hg total des cheveux sont sous forme de MeHg dont la demi-vie est d'au moins 11 ans (Cernichiari et al., 1995b). L'analyse des segments de cheveux de 1cm peut fournir un bilan rétrospectif de l'imprégnation au MeHg. De plus, la concentration du MeHg organique dans les cheveux est reliée à la concentration sanguine et à la charge corporelle totale en Hg. Le ratio cheveux /sang est de 250 à 300 (Dolbec et al., 2001).

### 4.3.2 Hg Sanguin

Le Hg sanguin à l'état d'équilibre (taux d'apport = taux d'élimination) représente un bioindicateur cumulatif dont la demi-vie varie entre 40 et 120 jours et est également, un bon biomarqueur d'exposition récente au Hg (NRC. 2000). Les niveaux sanguins de Hg sont généralement corrélés aux taux de Hg dans les cheveux (Phelps et al., 1980). De plus, chez l'humain, le Hg sanguin constitue également un bioindicateur de l'exposition du cerveau, le ratio cerveau/sang étant de 6 (WHO, 1990). Le Hg sanguin total ainsi que le Hg inorganique ont été dosés dans le sang. Le Hg organique a été calculé en faisant la différence Hg total moins Hg inorganique.

### 4.3.3 Les BPC

La métabolisation des BPC est un processus très long et leur demi-vie peut varier de plusieurs mois à plusieurs années (Shirai and Kissel, 1996). Le dosage sanguin des BPC représente une bonne estimation de la charge corporelle, particulièrement celle se retrouvant dans les tissus adipeux (Park et al., 2005). Pour cette étude 16 congénères de BPC ont été dosés (BPC: 31-28, 52, 74, 101, 99, 149, 118, 153, 105, 138-158, 187, 183, 128, 156, 180, 170). Afin d'étudier les effets spécifiques de certaines familles de congénères, l'Arochlore 1260, une préparation commerciale de BPC, a été calculé selon la formule suivante (PCB 138 + PCB 153)\*5.2). Par ailleurs, la somme des congénères ayant une activité dioxine-like (PCB 105, PCB 118, PCB 128, PCB 138, PCB 170) a été faite afin d'étudier la neurotoxicité de cette famille de congénères (Giesy et al., 2000; Schwarz and Appel, 2005).

### 4.3.4 Les pesticides organochlorés

Malgré leur interdiction depuis les années 80, les pesticides organochlorés tel que le *p,p'*-DDT et son métabolite le *p,p'*-DDE, dont la source principale peut également être la consommation de poisson, sont retrouvés à des niveaux élevés dans le sang et les tissus adipeux de plusieurs populations (Beard, 2006; Snedeker, 2001; Stuetz, 2006). Du fait de leur toxicité similaire aux BPC (Weiss, 2000), dix sept pesticides organochlorés (le pentachlorobenzène, l'heptachlore, l'alpha-hexachlorohexane, l'hexachlorobenzène, le beta-hexachlorohexane, le gamma-hexachlorohexane, l'heptahepoxyle, l'oxychlordan, le trans-chlordan, le cis-chlordan, le trans-nonachlore, le cis-nonachlore, le *p-p'* DDE, le *p-p'* DDT, le *p-p'*

DDD, le photomirex et le mirex) ont également été dosés dans le sang et prises en considération dans les analyses statistiques.

#### **4.3.5 Les métaux**

La neurotoxicité du plomb (Sanders et al., 2009), et du manganèse (Santamaria, 2008) étant prouvée, ces métaux ont été dosés et pris en considération dans les modèles statistiques comme variables confondantes. Par ailleurs, le sélénium, oligo-élément qui possède potentiellement des propriétés protectrices contre la neurotoxicité du MeHg (Rice, 2008; Whanger, 2001) a également été dosé afin de tester l'interaction MeHg/Se.

#### **4.4 Autre dosage**

##### **4.4.1 Les acides gras-essentiels**

Les poissons représentent pour l'humain, une excellente source de d'acides gras polyinsaturés de type oméga-3 (Din et al., 2004; Mahaffey, 2004). De nombreuses études relatent les bienfaits des acides gras polyinsaturés sur le système nerveux central (Moreira et al., 2009; Morris, 2009). Selon le Guide alimentaire canadien, il est recommandé pour la population générale de consommer au moins deux portions (75 g chacune) de poisson par semaine (Santé Canada, 2007). De ce fait, les acides gras polyinsaturés ont été dosés dans le sang et ont été considérés comme des variables confondantes dans les modèles statistiques. Nous avons également testé, l'interaction MeHg/oméga-3 afin d'explorer les effets bénéfiques des Oméga-3 sur le SNC.



#### 4.5 Contrôle de qualité des analyses

Le contrôle de l'exactitude des analyses de Hg dans les cheveux était assuré par l'utilisation des standards de calibration avec des valeurs connues. Ces standards sont fournis par l'Agence Internationale de l'Énergie Atomique (AIEA) « International Atomic Energy Agency ; Analytical Quality Control Services ». En ce qui concerne les biomarqueurs sanguins, le CTQ-INSPQ est un laboratoire accrédité ISO 17025 et fait partie du programme de comparaison interlaboratoire. Dans le cadre de la comparaison pour les métaux dans les matrices biologiques, la notation des performances analytiques pour le dosage du Hg était de 36/36 pour la précision et de 6/6 pour la reproductibilité.

Pour la validité du dosage des BPC, deux sortes d'études de rendement ont été effectuées grâce (1) aux méthodes d'ajout interne qui consiste à rajouter un standard interne « surrogate » avant le traitement de l'échantillon et de le doser afin de corriger les résultats selon le rendement de la méthode d'extraction et (2) à l'utilisation des standards de référence (1589a PCBs, Pesticides and Dioxins / Furans in Human Serum, NIST) de la « *National Institut of Standards and Technology (NIST)* ». Les détails du dosage est présenté dans le chapitre trois à la section méthodologie.

**Tableau 1.2** Matériel de prélèvement, conservation des échantillons et méthodologie de dosage

Analyses	Échantillons	Matériel de prélèvement	Conservation	Méthode de dosage	Lieu d'analyse
Hg total <sup>1</sup>	Sang total	Tube 10 ml. Becton-Dickinson Vacutainer- avec 0,05 ml d'EDTA K3 15%	4°C	Spectrophotométrie d'absorption atomique à vapeur froide (SAA-vapeur froide)	CTQ-INSPQ
Hg cheveux	Cheveux	Pince, ciseaux, feuille et sac Ziploc	Température de la pièce	Cold-Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry (CV-AFS)	GEOTOP
Pb, Se, Cd, Mn	Sang total	Tube 10 ml. Becton-Dickinson Vacutainer- avec 0,05 ml d'EDTA K3 15%	4°C	Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry (ICP-MS)	CTQ
BCP et pesticides organochlorés	Sérum	Tube sec	-20°C	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) avec extraction sur phase solide (SPE)	CINÉ Mc-Gill
Hormones thyroïdiennes	Sérum	Tube sec	-20°C	Radio-Immuno Essai (RIA)	TOXEN UQAM
Les acides gras polyinsaturés	sérum	Tube sec	-20°C	Par GC-MS après extraction et purification	CINÉ Mc-Gil
Lipides totaux	sérum	Tube sec	20°C	Méthode colorimétrique	CTQ

<sup>1</sup> Le Hg organique = différence entre le Hg total et Hg inorganique

## **4.6 Questionnaires**

Les informations relatives à la consommation de poisson et de sauvagine ainsi que les informations sociodémographiques, médicales et professionnelles sont recueillies au moyen de 2 questionnaires différents.

### **4.6.1 Questionnaire de fréquence alimentaire (FFQ)**

Le questionnaire de fréquence de consommation de poisson, a été administré par une cheurcheure formée. Ce questionnaire est composé de 4 volets, a été validé dans une autre étude (Legrand et al, 2005) et a ciblé 19 espèces de poisson d'eau douce et 38 espèces de poisson vendues sur le marché canadien.

1/ Le premier volet comprenait des questions sur les habitudes de consommation des dix-neufs espèces de poisson d'eau douce les plus pêchées dans les lacs à l'étude ainsi que dans d'autres lacs et rivières fréquentés par les pêcheurs. Pour chaque espèce de poisson, le nombre de repas et le nombre de portions par repas consommés par jour ont été notés et ceux sur une base trimestrielle. Pour cette étude la portion a été estimée à 120 g.

2/ Le deuxième volet traitait de la consommation, sur une base annuelle, des espèces de poisson vendues sur le marché (38 espèces). Le terme « poisson du marché » incluait les poissons marins, les mollusques et crustacés selon que le poisson était en conserve, en bâtonnets, congelées ou frais. Le nombre de repas et de portions par repas ont été notés.

3/ Le troisième volet comprenait les fréquences de consommation de gibiers et de sauvagines selon les quatre saisons ainsi que leur provenance (lacs en étude ou les autres lacs et rivières). Dans ce cas, le nombre de prises consommées par année a été noté.

4/ Le quatrième volet évaluait les changements des habitudes de pêche des participants et les remarques par rapport à la qualité des poissons et de leurs écosystèmes respectifs.

#### **4.6.2 Questionnaire sociodémographique**

Auto-administré, ce questionnaire comprenait, dans l'ordre, les volets suivants : (1) données sociodémographiques (âge, sexe, nombre d'années de scolarité, revenu, lieu d'habitation), (2) antécédents médicaux (maladie actuelle, histoire médicale, séquelles médicales, médication), (3) style de vie (tabagisme, consommation d'alcool, de café, de thé, de drogue), (4) parcours professionnel (emploi occupé dans le passé, emploi actuel, type d'exposition professionnelle aux produits toxiques) (5) les passe-temps (type de passe-temps, exposition à des produits toxiques durant les passe-temps) .

## 4.7 Mesures d'effets

### 4.7.1 Tests neuromoteurs

Les performances psychomotrices (motrices, sensorielles et cognitives) des participants ont été examinées grâce à une large batterie de tests sensibles. Les tests sélectionnés pour cette étude sont largement utilisés en évaluation clinique et dans des études de la neurotoxicité du Hg (Hänninen H, Lindstrom K. 1979, Lebel et al, 1998, Dolbec et al, 2000).

#### 4.7.1.1 Les tests moteurs

***Le test Santa Ana (version Helsinki) :*** Développé par Fleishman, (1954b), ce test fait partie de la batterie de tests « Neurobehavioral Core Test Battery » (NCTB) proposé par le comité de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) dans la détection des effets neurotoxiques. Il explore la dextérité manuelle et la coordination en intégrant les fonctions visuelles, spatiales et motrices (Fleishman, 1954b). Le participant doit saisir des pions, un à un, les tourner de 180° et les replacer dans leur trou, le plus vite possible. Deux essais ont été réalisés avec chaque main, en commençant par la main dominante. Le nombre de pions manipulés en 30 secondes a été noté.

***Le « Grooved Pegboard test » (model 32025, Lafayette Instruments)*** Ce test évalue la coordination visuo-motrice et la dextérité manuelle fine (Fleishman, 1954b; Klove, 1963). Le participant doit placer 25 petites tiges dans des trous. Les tiges ont une configuration différente et doivent être orientées correctement pour pouvoir être introduite dans trous respectifs. Le test est refait deux fois avec chaque main. Le temps nécessaire pour compléter les 25 trous est noté.

***Le “Finger Tapping test” (model 32726, Lafayette Instrument).*** Développé par Fleishman, (1954b), ce test mesure la vitesse motrice fine. Avec l’index, le participant doit presser le plus vite possible sur un levier relié à un compteur. Le test de 10 secondes est refait 3 fois avec la main dominante et non dominante en alternance. Le nombre de pesés pour chaque main est noté.

***Le temps de réaction simple :*** Ce test détermine la vitesse de réaction à un stimulus visuel (lumière). Durant 6 minutes, le participant doit appuyer sur un bouton aussi vite que possible lors de l’apparition, à des intervalles différents, d’une lumière. Le temps de réaction et le nombre de coups manqués sont enregistrés.

***Le BAMT (Branches Alternate Movement Task) :*** Ce test examine la coordination motrice. Le participant doit effectuer un mouvement croisé avec les mains (Lebel et al., 1998). Le nombre de mouvements effectués en 30 secondes est compté. Le test est refait 3 fois et la moyenne des 3 tests constituera le score final.

#### **4.7.1.2 Les tests sensoriels**

L’ensemble des test visuels ont été réalisés dans une chambre noire avec une lumière standard émanant d’une lampe fluorescente (1150-lx) placée à 0,3 m au dessus de la plate-forme de travail.

***L’acuité visuelle:*** Elle permet de percevoir, dans un champ de vision, les éléments de façon claire. L’acuité visuelle peut être réduite et ainsi affecter les résultats des autres tests. L’acuité visuelle a donc été mesurée en vision éloignée (6 m) et rapprochée 37 cm selon les protocoles standardisés de la « *Snellen Chart et la National Optic Chart* » respectivement.

***Sensibilité des contrastes (Vistech 6000)*** : Ce test examine la sensibilité visuelle de près aux contrastes. Il permet de détecter les atteintes du système visuel par la perte ou la diminution de la perception des fréquences spatiales de 1,5, 3, 6, 12 and 18 cycles par degré (Kennedy and Dunlap, 1990). Une perte dans les hautes fréquences témoigne d'une atteinte au niveau optique alors qu'une perte dans les basses et les moyennes fréquences sont indicatrices de dommage cérébrale (Regan and Neima, 1983). Pour ce test, le participant doit montrer la direction de lignes placées sur des feuilles. Un score pour chaque œil a été calculé.

***Test 15 désaturé de Lanthony*** : Ce test est utilisé pour la détection des axes de confusion chromatique se traduisant par des dyschromatopsies (anomalies de la vision des couleurs) (Lanthony, 1978). Le participant doit placer une série de 15 capsules de couleur pastel selon un gradient chromatique. Chaque œil est examiné séparément et le score représenté par l'Index de Confusion Chromatique (ICC) est calculé, pour chaque œil, selon la méthode de Bowman (1982).

***Test de la discrimination entre deux points (æsthésiomètre)*** : Ce test évalue la sensibilité tactile (Carlson et al., 1979). Le test est administré au niveau de l'index, du pouce et au-dessous de la lèvre. À l'aide d'un æsthésiomètre à deux pointes, l'administrateur applique l'æsthésiomètre, en changeant la distance entre les deux pointes à chaque application. Le participant, les yeux bandés, doit citer le nombre de pics qu'il perçoit. La plus petite distance entre les deux pointes perçue par le participant est notée.

#### 4.7.1.3 Les tests neurocognitifs

Les tests cognitifs choisis sont utilisés en clinique et dans les études épidémiologiques sur les populations générales. Les tests que nous avons choisi sont très sensibles à tout changement des fonctions cognitives (Anger, 1990).

***Les tests d'apprentissage d'une liste de mots « le Word Recall ».*** Le rappel d'une liste de mots et la mémoire différée de la liste de mots font partie de la batterie de tests MAS (Memory Assessment Scales). Ce sont des tests qui explorent la flexibilité cognitive, l'attention et la mémoire des mots (Knopman and Ryberg, 1989). Pour l'apprentissage des listes de mots, le participant doit répéter douze mots préalablement nommés par l'administrateur, le test est refait autant de fois jusqu'à ce que le participant cite les douze mots. Le rappel de la liste de mots consiste, après un délai de 5min, à demander au participant de citer de mémoire cette liste de mot. Pour la mémoire différée, le participant doit, 30 min après le premier test, citer les mots dont il se souvient. Le nombre de mots rappelés, le temps de rappel et le nombre d'erreurs sont notés.

***L'annulation des H.*** Ce test évalue la concentration et le repérage visuel (Diller et al, 1974). Le participant doit, le plus rapidement possible, repérer et souligner la lettre H sur une feuille sur laquelle est inscrite avec une série de lettres. Le temps mis pour effectuer le test, le nombre de H annulés, les erreurs et les omissions sont notés

***L'annulation des symboles.*** Ce test évalue la concentration et l'attention visuelle (Diller et al, 1974). Comme pour le l'annulation des H, le participant doit repérer et souligner un symbole (☼) sur une feuille comprenant une série de figures. Le nombre de symboles soulignés et le temps sont notés.



**Le test des chemins « Trail Making A&B ».** Ce test évalue la vitesse visuo-motrice, le repérage visuel et les habiletés graphomotrices (Reitan, 1958). Lors de la première partie du test « *Trail Making A* », le participant doit relier successivement une série croissante de chiffres (1, 2, 3...) placés aléatoirement sur la feuille. Dans la deuxième partie, « *Trail Making B* », qui teste principalement la flexibilité cognitive. Le participant doit relier en alternance des chiffres et des lettres (1, A, 2, B, 3, C, 4...) placés aléatoirement sur une feuille. Les temps nécessaires pour compléter les tests sont notés

**Le Stroop Color / Word test.** Ce test évalue la flexibilité cognitive et l'habilité à nommer les mots et les couleurs (Golden, 1976). Dans le test « word », le participant doit lire à haute voix et le plus rapidement possible une série de cinq colonnes de 20 mots imprimés en noir et désignant des couleurs (ROUGE, VERT et BLEU). Dans le test « color » les mots sont remplacés par les signes XXXX imprimés en rouge, bleu et vert et, dans ce cas, le participant doit nommer les couleurs. Enfin, dans le test *Color-word*, les mots « rouge, vert et bleu » sont imprimés dans des couleurs autres que celles qu'ils désignent. Le participant doit nommer les couleurs d'impression et non pas les mots. Le nombre de mots cités correctement est noté ainsi que le nombre d'erreurs.

**Rappel des chiffres « Le Digit Span ».** Ce test évalue la capacité de concentration soutenue et la mémoire à court terme par le biais d'une tâche verbale (Weschler, 1981). Le participant doit répéter une série de 9 chiffres progressivement plus longue, dans l'ordre dans lequel ils ont été cités (minimum 3 et maximum 9) puis dans l'ordre inverse (minimum 2, maximum 8). Le nombre de chiffres correctement cités est noté.

*Le Digit Symbol (NCTB)* est considéré par Anger (1990) comme étant le test le plus utilisé et le plus sensible pour les évaluations de la mémoire et de la vitesse visuomotrice. Une série de 9 associations entre chiffres et symboles (  $\Gamma$  - 4, + - 7, > - 6 ) est montrée au participant qui doit compléter de mémoire les associations d'une série de 105 symboles le plus rapidement possible (Smith 1968). Le nombre de bonnes associations et le temps sont notés.

*Le test de la figure complexe de Rey Osterrieth* évalue l'organisation visuo-spatiale (Meyers et al., 1996). Le participant doit reproduire un dessin complexe immédiatement après l'avoir visualisé puis, recommencer de nouveau quelques minutes après. Après 30 min le participant doit reproduire de mémoire la figure. Les scores ont été calculés selon la méthode de Lezak (1995).

#### **4.7.2 Les hormones thyroïdiennes**

Afin d'étudier les effets des polluants à l'étude sur la fonction thyroïdienne, les hormones thyroïdiennes sériques : la *thyroid-stimulating hormone* (TSH), la triiodothyronine totale (TT3) et la tétraiodothyronine total (TT4) ont été dosées par radioimmunoassay (Forest et al., 1998).

#### **4.8 Mesures anthropométriques et médication**

Les mesures anthropométriques (taille et poids) ainsi ont été mesurées par une infirmière qualifiée. Les participants étaient invités à ramener avec eux leurs médicaments et les suppléments vitaminiques qu'ils prenaient ou alors de nous

fournir la liste de leurs médicaments qu'ils auraient transcrits chez eux. Les différents médicaments ont été classés selon les familles thérapeutiques suivantes : antidiabétiques, cardioprotecteurs, hypolipémiants, neuroleptiques, antalgiques, anti inflammatoire stéroïdiens et non stéroïdiens, hormones et suppléments vitaminiques.

#### **4.9 Estimation de l'apport en Hg/ jour ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ poids corporel/jour)**

Le COMERN nous a offert l'occasion de travailler avec le groupe de recherche en environnement qui était chargé de faire l'échantillonnage des espèces consommées localement et le dosage du Hg dans ces différentes espèces. À l'aide des données de Hg dans les poissons locaux, nous avons pu faire une estimation de l'apport en Hg ingéré par les participants. En ce qui concerne les autres lacs et rivières, les concentrations de Hg dans les poissons nous ont été fournies par le Ministère de l'Environnement du Québec. Des données de Hg dans le poisson du marché canadien, publiées par Dabeka (2000) et Forsythe (2003) ont servi à estimer l'apport en Hg via la consommation du poisson de l'épicerie, et les données manquantes ont été prises dans la base de données de l'EPA (2004), de la FDA (2004) et dans la publication de Mahaffey et al. (2004).

#### 4.10 Calcul de la quantité de poisson consommé / jour

En premier lieu, nous avons calculé la quantité de poisson consommée par jour. La portion de poisson a été estimée à 120 g. La quantité de poisson consommée par jour (g/j) a été calculée selon la formule suivante :

$$Q \text{ (g/j)} = \text{Quantité de poisson consommé} \\ = [R * P * 120] \text{ g de poisson}$$

Où: R = nombre de repas/ jour  
 P = nombre de portions/ jour  
 120 = poids de la portion (g)

#### 4.11 Calcul de l'estimation de l'apport en Hg/ jour ( $\mu\text{g/kg}$ poids corporel/jour)

L'estimation de l'apport en Hg ( $\mu\text{g/kg}$  poids corporel/j) à travers la consommation des différentes espèces de poissons (n=56) a été calculée selon la formule suivante :

$$\text{Apport Hg} \\ (\mu\text{g/kg poids corp. /j}) = \sum_n \left[ \frac{[\text{Hg}] \text{ espèces de poisson}^* \times \text{quantité de poisson}_{n \text{ espèces}} \text{ consommée (g/jour)}}{\text{Poids corporel (kg)}} \right]$$

#### 4.1.2 Entrée et validation des données

Une double saisie des données a été réalisée en utilisant une matrice préétablie sur le logiciel Microsoft Access (Version Microsoft.XP). La validation et le contrôle de qualité de l'entrée de données ont été effectués par une troisième personne, par soustraction des scores (matrice1 – matrice 2). Les résultats différents de zéro ont été vérifiés et corrigés.

#### 4.1.3 Analyses des données

Le degré de signification statistique a été établi à  $P \leq 0.05$ . Les programmes statistiques JMP 5.0.1 et Statview 5.01 (SAS Institute) ont été utilisés lors de l'analyse statistique des données.

Des statistiques descriptives ont permis d'illustrer le profil des variables sociodémographiques, les niveaux des contaminants dosés ainsi que les résultats des différents questionnaires. Des modèles de régressions pas à pas «stepwise» ont été utilisés pour analyser les corrélations et déterminer les variables à prendre en compte dans les différents modèles. Les relations entre les biomarqueurs d'exposition et la consommation de poisson et de sauvagine ont été analysés par des modèles de régressions multiples. Par ailleurs les relations entre les biomarqueurs d'exposition et les hormones thyroïdiennes ont été analysés selon le genre grâce à des modèles de régression multiples séparés pour les hommes et les femmes en prenant pour en considération les facteurs qui influençaient cette relation. Finalement, les relations entre les biomarqueurs d'exposition les scores des tests ont été analysés en suivant trois étapes. (1) une analyse statistique continue incluant l'ensemble des participants (n=260) (2) une analyse faite selon le genre et (3) une analyse après

stratification par âge. Dans les 3 cas des régressions multiples ont été faites en prenant en considération les variables confondantes spécifiques au groupe et la colinéarité des variables. Les effets combinés entre polluants ont été testé par le modèle de croisement d'effets «Crossing» et par stratification du groupe selon les niveaux d'exposition au Hg et aux OC suivant la procédure décrite par Grandjean et al. (2000) et Steward et al. (2000). Les détails de l'ensemble des analyses statistiques sont inclus dans la section analyse statistique des chapitres deux, trois et quatre.

#### **4.1.4 Retour aux communautés**

Une fois les analyses statistiques terminées, des rencontres avec les deux communautés ont été organisées. Lors de ces rencontres, nous avons présenté aux participants les résultats de l'étude. Nous leur avons expliqué les bilans de consommation de poisson et l'impact observé sur leur santé. Ces rencontres nous ont aussi permis d'interagir avec les participants, de répondre à leurs questions et de leur proposer des suggestions, particulièrement, sur leurs consommations de poisson d'eau douce afin de maximiser les bienfaits tout en minimisant les risques qui lui sont liés.

#### **4.1.5 Considérations éthiques**

Le protocole de recherche a été approuvé par le Comité d'éthique de la recherche de l'Université du Québec à Montréal. Tous les participants ont signé un formulaire de consentement éclairé. La confidentialité des données de tous les participants de l'étude a été assurée par l'attribution d'un numéro d'identification à chaque participant.

## CHAPITRE II

### **ECOSYSTEM MATTERS: FISH CONSUMPTION, MERCURY INTAKE AND EXPOSURE AMONG FLUVIAL LAKE FISH- EATERS**

Abdelouahab Nadia; Vanier Claire; Baldwin Mary; Garceau Steve.; Lucotte Marc et  
Mergler Donna<sup>1</sup>

Publié dans la revue *Science of total Environment* en 2008  
Vol 407 (1) : 154-164

**RÉSUMÉ :** De nombreuses études utilisent le nombre de repas de poisson comme une estimation de l'apport en Hg, et ce malgré le fait que la concentration en Hg dans le poisson puisse varier de façon importante, même au sein de la même espèce. De plus, la plupart des recommandations portant sur la consommation de poisson ne réfèrent qu'au poisson capturé localement, alors que celles du poisson du marché ne focalisent que sur le poisson d'épicerie, bien que les deux puissent contribuer à l'augmentation de la charge corporelle en Hg. La présente étude, réalisée dans deux communautés riveraines provenant de deux écosystèmes différents du Québec (Canada) cherche à (i) estimer l'apport en Hg provenant de la consommation du poisson d'eau douce, de la sauvagine et du poisson du marché, (ii) examiner la relation entre la consommation du poisson, l'estimation de l'apport en Hg et les biomarqueurs d'exposition au Hg. Un total de 238 adultes (18-74 ans), ayant consommé, dans les 3 derniers mois, du poisson d'eau douce pêché localement, ont répondu à un questionnaire exhaustif sur la fréquence de consommation du poisson et de la sauvagine. Des mesures anthropométriques ont été prises et un questionnaire auto-administré a été utilisé pour obtenir des informations sociodémographiques. L'estimation de l'apport en Hg est exprimée en  $\mu\text{g Hg/kg}$  poids corporel/jour. Le Hg a été mesuré dans le sang et les cheveux. Les résultats montrent que les participants d'un écosystème, comparativement à ceux de l'autre écosystème, consomment significativement plus de poisson (médiane: 52.1 g/j vs 38.9 g/j), mais présentent des concentrations de Hg significativement moins élevées dans les cheveux (médiane: 448.0 ng/g vs 730.5 ng/g) et dans le sang (Hg organique sanguin : médiane: 1.1  $\mu\text{g/L}$  vs 3.4  $\mu\text{g/L}$  et le Hg inorganique : médiane: 0.4  $\mu\text{g/L}$  vs 0.8  $\mu\text{g/L}$ ). La médiane de l'apport en mercure est de l'ordre de 0.080  $\mu\text{g/kg/j}$  pour la première communauté et de 0.141  $\mu\text{g/kg/j}$  pour la seconde. En général, 59.5% des participants du premier écosystème et 41.0% du second dépassent les références US EPA RfD (0.1  $\mu\text{g/kg/j}$ ), alors que 13.2% et 6.0%, respectivement, ont excédé l'apport journalier admissible selon les recommandations canadiennes (0.47  $\mu\text{g/kg/j}$ ) pour les adultes. Pour les deux groupes, la fréquence de consommation du poisson d'eau douce, mais pas la consommation totale de poisson, est positivement associée aux bioindicateurs du Hg, alors que l'estimation de l'apport journalier en Hg via la consommation de poisson d'eau douce ainsi que via la consommation totale de poisson est positivement reliée aux biomarqueurs du Hg. Une relation positive entre la consommation de poisson d'eau douce, l'estimation de l'apport en Hg et le mercure inorganique a été notée. Ces observations démontrent que la quantité de poisson consommée représente un mauvais indicateur d'exposition au Hg. Les différences des apports en Hg entre les deux communautés reflètent une disparité dans la diversité des espèces de poisson et leur capacité de bioaccumuler le Hg dans les deux écosystèmes. Les études et les recommandations doivent non seulement considérer les différents niveaux de Hg dans les poissons d'eau douce, les profils de consommation de poisson, mais aussi l'apport en Hg via la consommation de poisson du marché. La relation entre la consommation de poisson et le Hg inorganique sanguin doit être davantage étudiée.



**ABSTRACT:** Many studies use the number of fish meals as an estimate of Hg intake, although fish Hg concentrations, even within the same species, can greatly vary. Furthermore, most freshwater advisories only refer to local catch, while market fish advisories only focus on market fish, although both can contribute to Hg body burden. The present study, carried out in lakeside communities from 2 ecosystems in Quebec, Canada, sought to (i) estimate Hg intake from local freshwater sources, hunted waterfowl and market fish and seafood, and (ii) examine the relations between fish consumption, estimated Hg intake and biomarkers of exposure. A total of 238 adults (18-74y), who had consumed local catch within the past three months, responded to an extensive interview-administered fish and waterfowl frequency questionnaire. Anthropometric measures were taken and a self-administered questionnaire was used to obtain socio-demographic information. Hg intake was estimated as  $\mu\text{g Hg/kg body weight/day}$ . Blood and hair samples were analyzed for Hg content. Results showed that persons from one ecosystem ate significantly more fish compared to those from the other (median: 52.1 g/d vs 38.9 g/d), but presented significantly lower concentrations of hair Hg (median: 448.0 ng/g vs 730.5 ng/g), blood organic Hg (median: 1.1  $\mu\text{g/L}$  vs 3.4  $\mu\text{g/L}$ ) and inorganic Hg (median: 0.4  $\mu\text{g/L}$  vs 0.8  $\mu\text{g/L}$ ). Median daily total Hg intake was 0.080  $\mu\text{g/kg bw/day}$  for the former community and 0.141  $\mu\text{g/kg bw/day}$  for the latter. Overall, 59.5% from the first ecosystem and 41.0% from the other, exceeded the US EPA RfD (0.1  $\mu\text{g/kg bw/day}$ ), while 13.2% and 6.0%, respectively, exceeded the Canadian tolerable daily intake (0.47  $\mu\text{g/kg bw/day}$ ) for adults. For the two groups, freshwater fish consumption frequency, but not total fish, was positively associated with bioindicators of Hg while estimated Hg intake from freshwater catch as well as from total fish consumption were positively related to Hg biomarkers. There was a positive relation between consumption and estimated Hg intake from freshwater fish and blood inorganic Hg. These findings indicate that the number of fish can be a poor surrogate for Hg exposure. The differences observed here for Hg intake and exposure reflect ecosystem disparities in fish diversity and Hg bioaccumulation. Studies and advisories need to consider Hg fish concentrations and fish-eating patterns in different ecosystems, as well as the contribution of market fish. The relation between fish consumption and inorganic Hg exposure, reported as well in other studies, needs to be further investigated.

## INTRODUCTION

There is much controversy over how to assess the benefits and risks of fish consumption. Fish is a healthy food providing protein and nutrients (Bates et al., 2006) and many species are a good source of unsaturated fatty acids (Mahaffey et al., 2007; Mozaffarian and Rimm, 2006; Philibert et al., 2006). On the other hand, fish may also be an important source of mercury (Hg) and other contaminants (for review see: Scheuhammer et al., 2007). In aquatic systems, inorganic Hg (HgI) is converted into methylmercury (MeHg) by the biota, and bioaccumulates in the aquatic food chain (Renzoni et al., 1998). For communities living near rivers, lakes and oceans, fishing and fish consumption are an important part of their lifestyle and diet. These communities are often at risk of chronic Hg exposure through long term fish consumption (for review see : Mergler et al., 2007).

In the past years, many agencies have revised their recommendations on mercury intake. The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA, 2003) reduced its recommended tolerable daily intake for MeHg from 0.47 to 0.23  $\mu\text{g}/\text{kg}$  body weight (kg bw)/day. The US Environmental Protection Agency (US EPA) adopted a methylmercury Reference Dose (RfD) of 0.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  bw/day (US EPA, 2003) and Health Canada's tolerable daily intake is 0.47  $\mu\text{g}/\text{kg}$  bw/day for adults and 0.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  bw/day for children and women of child-bearing age (Health Canada, 1998).

Although advisories are based on mercury intake, most studies have little information on the actual levels of Hg in fish diets and use data from published estimates or the number of fish meals as a proxy for Hg intake (Duchesne et al., 2004; Kosatsky et al., 2000; Mahaffey et al., 2004; Morrissette et al., 2004). Fish is often used as a generic term to cover a wide range of species with different eating habits. It

is well known that piscivorous fish have considerably more Hg compared to non-piscivorous fish (Lima et al., 2005; Marrugo-Negrete et al., 2007), but even among the piscivores there is a wide range of Hg concentrations. Smaller and/or younger piscivores generally contain less Hg than larger ones, although this is not always the case (Scheuhammer et al., 2007). Moreover, fish of the same species and same size can have important differences in Hg content, depending on their immediate ecosystem (Evans et al., 2005; Simoneau et al., 2005).

Studies of freshwater fish consumers usually report only consumption of local catch (Johnsson et al., 2005; Kosatsky et al., 2000; Kosatsky et al., 1999; Mahaffey and Mergler, 1998; Nadon et al., 2002), but market fish can likewise contribute to Hg body burden (Burger and Gochfeld, 2006; Burger et al., 2004; Forsyth et al., 2004; Sunderland, 2007). In Canada, a survey of market fish and seafood revealed that tuna and several frequently consumed predatory fish exceeded the Canadian guideline of 0.5  $\mu\text{g/g}$  total mercury for fish commercialization (Forsyth et al., 2004). Elevated Hg levels have also been reported for some waterfowl species harvested in Canadian ecosystems and these may represent another source of Hg intake (Duchesne et al., 2004)

In Quebec, Canada, Hg concentrations in fish in many lakes and rivers have decreased over time (Environment Canada, 1996, Laliberte, 2004), but some piscivorous fish species still attain Hg concentrations above 0.5  $\mu\text{g/g}$  (Saint-Laurent.Vision 2000, 2003). Lakeside communities continue to eat these fish. Statistics Canada report that overall fish and seafood consumption increased by 10% from 1991 to 2003 in Canada and expect it to rise to 40% in 2010 in North America (Bernadette, 2005).

Biogeochemical studies have shown that ecological factors and geographic location can influence Hg bioaccumulation in fish (Simoneau et al, 2005). This, in turn, would be reflected in fish consumers' mercury intake and exposure. The present study sought to examine differences in mercury intake and biomarkers of Hg exposure in lakeside communities living in two different ecosystems in Quebec, Canada.

The specific objectives of this study were i) to determine Hg intake from freshwater local fish using fish Hg concentration data collected from the two ecosystems; ii) to estimate total Hg intake from local fish and waterfowl as well as from market fish and seafood; iii) to examine the relations between fish and seafood consumption, estimated Hg intake and biomarkers of Hg exposure.

## **MATERIALS AND METHODS**

This study was carried out within the Canadian Mercury Research Network (COMERN), whose overall objective was to examine the sources, transmission and effects of Hg, using an interdisciplinary ecosystem approach (COMERN, 2007).

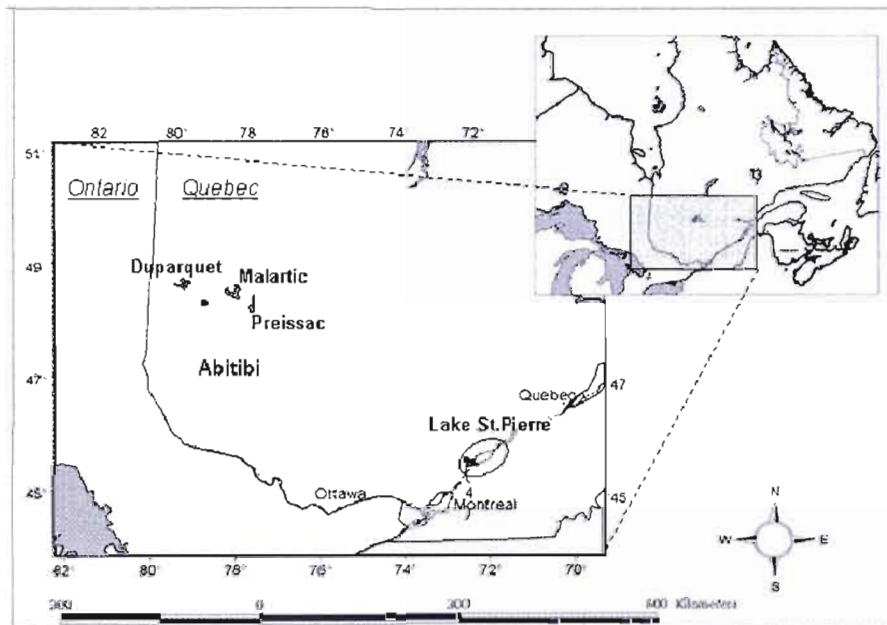
### **Study sites and recruitment**

We used a cross-sectional design and targeted freshwater fish-eaters from lakeside communities in two ecosystems in Québec, Canada (Figure 2-1): Lake St. Pierre (LSP), a fluvial lake of the St. Lawrence River downstream from Montreal, and three Boreal lakes in the Abitibi area: Preissac (lake 1), Malartic (lake 2) and Duparquet (lake 3). Convenience samples of 130 participants were sought from each

region and recruitment was carried out in collaboration with regional fishers' associations. Information about the project was provided during association meetings and through personal letters to the fisher association members. Interested participants filled in a response form and were then contacted by telephone to determine eligibility and set up an appointment. Eligibility criteria for the present analyses were: age ( $\geq 18$  years) and consumption of freshwater catch within the three months preceding data collection. The final sample included 117 persons from LSP and 121 persons from Abitibi. The study was carried out in March - April 2003 in LSP, and in July - August 2003 in the Abitibi region.

The study protocol was approved by the Internal Review Board of the University of Quebec at Montreal (UQAM) and informed consent was signed by each participant.

Figure 2-1 Area of study: Lake St. Pierre and the three Abitibi lakes (Preissac, Malartic and Duparquet)



## Questionnaires

Socio-demographic information was collected using a self-administered questionnaire, which included items on age, education, family income, drinking and smoking habits, occupation, occupational and recreational exposure to chemicals, medical history, medication and number of dental amalgams.

A food frequency questionnaire (FFQ) covering fish, seafood and waterfowl consumption, adapted from Legrand et al. (2005), was administered by a trained interviewer. For freshwater catch, seasonal consumption (winter, spring, summer and fall) was obtained for each species. For market fish and waterfowl, consumption was recorded with respect to weekly, monthly or annual consumption, depending on the frequency of consumption. Market fish were separated into the following categories: fresh, frozen, canned, marinated and fish sticks. For each item, participants were asked how many meals and portions/meal they had consumed. Portion size of 120g, shown to participants, was used for each fish species, and fish intake (g/day) was estimated for each season and for the entire year for each of the reported 37 fish species (13 freshwater and 24 marine). Since participants were not always able to differentiate between walleye (*Stizostedion vitreum*) and sauger (*Stizostedion canadense*), results from the 2 species are presented as walleye.

## Anthropometric measures

Height and weight were measured and used to calculate the body mass index (BMI) ( $\text{weight (kg) / height}^2 \text{ (m}^2\text{)}$ ).

### **Biological sampling and analysis**

Blood samples were obtained by venipuncture in 10-ml metal-free Becton-Dickinson Vacutainer blood collection tubes with 0.05 ml of 15% EDTA K<sub>2</sub>. Samples were coded, stored at 4 °C and sent daily to the Quebec Center of Toxicology of the Quebec Institute for Public Health (CTQ-INSPQ). Total Hg (THg) and inorganic Hg (IHg) were analyzed by Cold Vapor Atomic Absorption Spectrophotometry using a mercury monitor (model 100; Pharmacia Instruments, Piscataway, NJ, USA). The limit of quantification was 0.2 µg/l. Organic Hg (OHg) was calculated as the difference of THg and IHg. Certified reference material was analyzed for quality control purposes. The CTQ-INSPQ is ISO 17025-accredited and analytical performance for Hg analysis in the Interlaboratory Comparison Program for Metals in Biological Media was 36/36 for precision and 6/6 for reproducibility.

Hair samples were collected from the occipital region of the head close to the scalp. The lock of hair was then stapled at the base and stored in identified ziploc bags until analysis. The hair strand was cut into consecutive centimeter segments. Following sulfuric and nitric acid digestion of each segment, total hair Hg (HHg) was analysed by cold-vapor atomic fluorescence spectrometry (CV-AFS) at the GEOTOP Laboratory of the University of Quebec at Montreal (UQAM), according to the procedure described by Bloom and Fitzgerald (1988). Detection limit was 1 ng/g and quantification limit was 3 ng/g. Precision and accuracy of Hg determination were ensured by using an internal hair standard provided by the International Atomic Energy Agency (Analytical Quality Control Services) and two blanks were added to each series. Results from the Inter-laboratory Comparison Program for mercury in human hair showed that 50 of the 54 standard samples (92.5%) were within 1 standard deviation and the other four were within 2 standard deviations (Gill et al.,

2002). For the present analyses, mean Hg concentration of the first three centimeters closest to the scalp were used.

### **Fish sampling and Hg analysis**

The Hg concentrations in local fish were obtained from COMERN. A detailed description of the methods is provided elsewhere (Simoneau et al., 2005). In LSP, between August and October 2002, walleye, sauger, northern pike and yellow perch were captured and analyzed for Hg concentration. In the Abitibi region, walleye, sauger and northern pike were collected in 2000 and 2001 from each of the three lakes. Total Hg concentrations in flesh were carried out in the GEOTOP laboratory at the UQAM. Most samples were analyzed by cold vapour atomic absorption spectrometry (CV-AAS). Quality control included analytical and procedural blanks and certified calibration standards (Tort-2 and Dorm-1). Coefficients of variation of  $\pm 8\%$  and  $\pm 4\%$  for Hg concentrations of 240 ng/g and 10 ng/g respectively were obtained for the series of 12 replicates. The limit of detection was 10 ng/g for a sample of 300 mg, and the limit of quantification was 30 ng/g. For some additional fish samples, Hg concentrations were measured by cold vapor atomic fluorescence spectrometry (CV-AFS) as described in Pichet et al. (1999) with a detection limit of 2.0 ng/g for a sample of 100 mg and a quantification limit of 6.0 ng/g. Quality control included analytical and procedural blanks and certified calibration standards (Tort-2 and Dorm-1). To test the reproducibility of the analytical procedure, samples were analyzed in duplicate with a variation coefficient of  $4 \pm 3\%$ . For the present study, the estimation of Hg intake included only fish specimens whose length was superior to 300 mm for walleye and 150 mm for northern pike, which correspond to the limits for “throw-back”.



### **Estimated Hg Intake**

For each participant, Hg intake ( $\mu\text{g}/\text{kg}$  bw/day) over the year was estimated for each fish species, based on fish Hg concentration ( $\mu\text{g}/\text{g}$ ) and fish consumption (g/d). For local fish from LSP and Abitibi, the COMERN fish Hg data were used. Table 2-1 presents the mean Hg concentrations for freshwater species from local and other lakes, as well as waterfowl consumed by participants. Where COMERN did not sample specific fish species, survey data provided by the Quebec Ministry of Environment (Laliberté, 2004), were used. Since participants consumed both walleye and sauger, the proportion of consumption of each species (walleye: 69.1%; sauger: 30.9%) was used to weight the estimation of Hg concentration. For catch from other lakes, a mean Hg concentration was calculated for each species, based on data provided to us by the Quebec Ministry of Environment (personal communication). An estimate of Hg intake from waterfowl was calculated using LSP and Abitibi waterfowl Hg data from Braune et al. (1999). For market fish and seafood, Canadian published data were used (Dabeka et al., 2004) and Mahaffey et al. (2004) published data were used when no Canadian data were available (Table 2-2).

**Tableau 2.1 Mean Hg concentrations ( $\mu\text{g Hg /g fresh weight}$ ) for freshwater fish and waterfowl.**

<b>Freshwater fish species</b>	Abitibi Mean ( $\mu\text{g/g}$ )	LSP Mean ( $\mu\text{g/g}$ )	Other lakes Mean ( $\mu\text{g/g}$ )
American eel ( <i>Anguilla rostrata</i> )	-	0.495 <sup>b</sup>	-
Atlantic Tomcod ( <i>Microgadus tomcod</i> )	-	-	0.540 <sup>b</sup>
Brown bullhead ( <i>Ameiurus nebulosus</i> )	-	0.098 <sup>a</sup>	0.143 <sup>b</sup>
Brown trout ( <i>Salmo trutta</i> )	-	-	0.143 <sup>b</sup>
Channel catfish ( <i>Ictalurus punctatus</i> )	-	0.180 <sup>b</sup>	0.180 <sup>b</sup>
Lake sturgeon ( <i>Acipenser fulvescens</i> )	-	0.150 <sup>b</sup>	0.150 <sup>b</sup>
Lake trout ( <i>Salvelinus namaycush</i> )	-	-	1.011 <sup>b</sup>
Northern pike ( <i>Esox lucius</i> )	Lake: 1: 1.031 <sup>a</sup> 2: 0.674 <sup>a</sup> 3: 0.547 <sup>a</sup>	0.244 <sup>a</sup>	0.674 <sup>b</sup>
	-	0.254 <sup>a</sup>	0.343 <sup>b</sup>
Walleye and sauger ( <i>Stizostedion vitreum</i> and <i>S. canadense</i> )	Lake: 1: 0.6474 <sup>a</sup> 2: 0.6882 <sup>a</sup> 3: 0.3767 <sup>a</sup>	0.235 <sup>a</sup>	0.925 <sup>b</sup>
Wild rainbow and brook trout's ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> and <i>Salvelinus fontinalis</i> )	-	-	0.322 <sup>b</sup>
Atlantic salmon ( <i>Salmo salar</i> )	-	-	0.085 <sup>b</sup>
Yellow perch ( <i>Perca flavescens</i> )	-	0.100 <sup>a</sup>	0.290 <sup>b</sup>
<b>Waterfowl</b>			
Ducks	0.113 <sup>c</sup>	0.169 <sup>c</sup>	0.376 <sup>c</sup>
White goose	0.072 <sup>c</sup>	0.081 <sup>c</sup>	0.075 <sup>c</sup>

a. COMERN; b. Adapted from Laliberté 2004; c. Braune et al., 1999.

Tableau 2.2 Mean Hg concentrations ( $\mu\text{g Hg /g}$  fresh weight) for market fish and seafood

Market fish	Mean ( $\mu\text{g/g}$ )	Market fish	Mean ( $\mu\text{g/g}$ )
Cod	0.11 <sup>e</sup>	Smelt	0.10 <sup>f</sup>
Haddock	0.03 <sup>e</sup>	Sole	0.04 <sup>e</sup>
Halibut	0.26 <sup>e</sup>	Fish stick	0.06 <sup>e</sup>
Herring	0.15 <sup>e</sup>		
Mackerel	0.07 <sup>e</sup>	<b>Seafood</b>	
Market trout's	0.03 <sup>e</sup>	Clam	0.02 <sup>f</sup>
Pollock	0.06 <sup>e</sup>	Crab	0.08 <sup>d</sup>
Salmon	0.04 <sup>d</sup>	Scampi	0.03 <sup>e</sup>
Sardine	0.02 <sup>e</sup>	Lobster	0.09 <sup>e</sup>
Shark	1.26 <sup>d</sup>	Mussel	0.02 <sup>d</sup>
		Octopus	0.03 <sup>f</sup>
Tuna		Oyster	0.01 <sup>d</sup>
fresh and frozen	0.32 <sup>f</sup>	Scallop	0.05 <sup>e</sup>
canned white in water/ oil	0.40 /	Shrimp	0.02 <sup>d</sup>
	0.30 <sup>a</sup>		
canned pale in water / oil	0.05 /	Squid	0.02 <sup>e</sup>
	0.04 <sup>a</sup>		

<sup>d</sup>. Dabeka et al., 2004; <sup>e</sup>. US FDA., 2006; <sup>f</sup>.(Mahaffey et al., 2004)

Total mercury intake ( $\mu\text{g/kg bw/day}$ ) was obtained by determining daily mercury intake for each species (mercury concentration ( $\mu\text{g/g}$ ) x daily consumption (g/d). These were summed for all species and waterfowl and adjusted to body weight (kg).

### Statistical analyses

Descriptive statistics were performed to characterize socio-demographic parameters, exposure levels, fish consumption and Hg intake. Since most variables were not normally distributed, non-parametric analyses were preferentially performed. For parametric analyses, Hg biomarkers, fish consumption and estimated Hg intake data were log-transformed. Analysis of variance (ANOVA) was used to

compare socio-demographic characteristics and biomarkers of Hg exposure and intake. The stepwise mixed procedure was used to test relationships between biomarkers of Hg exposure and potential co-variables, such as age, gender, dental amalgams and occupational exposure. Relations between THg, IHg, OHg and HHg (as independent variables) and estimated Hg intakes (as dependent variables) were examined, taking into account the co-variables retained by the stepwise analyses. Relations between Hg biomarkers and fish consumption were tested using multiple regressions with adjustments for age and gender and for IHg, the number of dental amalgams. All statistical analyses were performed using JMP 5.0.1a (SAS Institute Inc., 1999). The criterion for significance was set at  $p < 0.05$

## RESULTS

Table 2-3 presents the socio-demographic characteristics of the participants. No differences in blood and hair Hg biomarkers and fish consumption pattern were observed between participants from the 3 Abitibi lakes, which were therefore combined. Women made up 40.2% ( $n = 47$ ) and 50.4% ( $n = 61$ ) of the participants in LSP and Abitibi, respectively. There was no difference in age between ecosystems for men and women within or between ecosystems. Although 44.3% (40% in Abitibi and 49% in LSP) of participants reported a history of occupational exposure to metals, pesticides and/or organic solvents, no one reported occupational exposure to Hg. In the two groups, men's weight was significantly higher ( $p < 0.0001$ ) than women's.

Tableau 2.3 Socio-demographic information or the two ecosystem study groups: Abitibi and LSP

	Abitibi (n=121)		LSP (n=117)		Inter-group difference
	Mean ± SD (range)		Mean ± SD (range)		<i>P</i> <sup>1</sup>
Age	48.5 ± 13.4 (18-73)		50.2 ± 12.8 (18-74)		0.33
Education (years)	12.4 ± 3.3 (5-21)		11.6 ± 3.5 (3-19)		0.12
Weight (kg)	81.9 ± 15.9 (56-156.5)		80.8 ± 12.4 (55-128.1)		0.61
Men	67.5 ± 17.9 (36-137.5)		68.1 ± 13.7 (47-100.1)		0.34
Woman					
	n	%	n	%	<i>P</i> <sup>2</sup>
Family Income (\$)					
< 25 000	18	17	38	37	0.001
≥ 25 000	86	83	65	63	
Smoking habits					
Non-smokers	91	75	87	74	0.79
Smokers	29	24	30	26	
Alcohol intake					
Never drink	23	19	24	21	0.55
Drinkers	96	81	90	79	
Occupational toxics exposure	48	40	57	49	0.17
Yes	72	60	60	51	
No					
Dental amalgams					
0-5	54	51	24	26	0.001
5-10	34	32	37	41	
>10	10	10	13	14	
Unknown	7	7	17	19	

1. Wilcoxon Signed Rank test; 2. Chi square test

## Fish consumption

Consumption frequencies (median and range) for freshwater catch, market fish and seafood and waterfowl are presented for each region in Table 2-4. Freshwater catch made up 49.1% of total fish intake in Abitibi and 53.4% in LSP. Market fish consumption was similar in the two groups. In both regions, no relations were observed between total fish consumption and age, education level, alcohol intake, smoking status or family income.

Tableau 2.4 Median (minimum, maximum) of daily fish and waterfowl consumption and estimated Hg intake ( $\mu\text{g}/\text{kg}$  body weight/d) over the past 3 months

	Abitibi	LSP	Wilcoxon test ( <i>p</i> )
	Median (min.-max)	Median (min.-max)	
<b>Daily fish and waterfowl consumption (g/d)</b>			
Freshwater catch	15.8 (0.33 - 205.1)	21.1 (0.67 - 600.0)	0.01
Market fish and seafood	16.7 (0 - 143.7)	18.5 (0.55 - 114.0)	0.29
Total fish consumption <sup>a</sup>	38.9 (0.53 - 250.9)	52.1 (6.1- 643.2)	0.006
Waterfowl	0.66 (0 - 13.5)	0.99 (0 - 101.3)	0.03
<b>Daily Hg intake (<math>\mu\text{g}/\text{kg}</math> bw/day)</b>			
Freshwater catch	0.113 (0.002 - 2.293)	0.055 (0.003 - 1.788)	<0.0001
Market fish and seafood	0.009 (0 - 0.104)	0.014 (0.005 - 0.123)	0.40
Total fish	0.141 (0.008 - 2.332)	0.075 (0.004 - 1.804)	<0.0001
Waterfowl	0.00 (0 - 0.007)	0.002 (0 - 0.183)	<0.0001
TOTAL Hg Intake <sup>b</sup>	0.141 (0.008- 2.332)	0.080 (0.004 - 1.826)	0.0003

<sup>a</sup>Total fish consumption = freshwater catch + market fish and seafood.

<sup>b</sup>Total Hg intake = total fish Hg from total fish consumption + Waterfowl consumption.

Walleye, a high-end predator, was the species most consumed in both communities. In Abitibi, 90.9% compared to 66.7% in LSP of participants ( $p < 0.001$ ) reported having consumed walleye in the past three months. In Abitibi, this accounted for 66.5% of total freshwater fish intake (median: 10.6 g/d, max: 126.6 g/d), while in LSP it constituted 33.6% (median: 5.3 g/d, max: 257.1 g/d). In Abitibi, 31% of participants exceeded the recommended quantity for walleye, while in LSP it was only 4%. Northern pike, another fish, with high Hg content, was consumed by 42.1% of participants from Abitibi and 14.5% from LSP, but it only accounted for 15.9% and 5.9% of total freshwater catch consumption in the two regions, respectively.

Men consumed significantly more freshwater catch than women in both Abitibi ( $p = 0.0002$ ) and LSP ( $p = 0.0001$ ) (Abitibi: men: median 25.7 g/d (max. 205.1); women: median: 10.5 g/d (max. 118.7); LSP: men: median: 26.7 g/d (max. 600.0); women: median: 15.8 g/d (max: 171.4)). The man from LSP with the highest local fish consumption (600 g/d) worked as a fishing guide. No difference was observed for market fish consumption by gender ( $p > 0.05$ ). Marine fish with elevated Hg concentrations, such as tuna, were not highly consumed (median  $< 0.25$  g/d).

Waterfowl was consumed by 67% of participants in Abitibi, and 64 % in LSP. Ducks were the top waterfowl species and were consumed significantly ( $p < 0.0001$ ) more in LSP (median: 0.66 g/d; max: 95 g/d) compared to Abitibi (median: 0.01 g/d; max. 0.70 g/d).

## Estimated Hg intake

Table 2.4 presents the medians and range of estimated daily Hg intake from freshwater, market fish and waterfowl. Freshwater fish consumption constituted 82.7% of total Hg intake in Abitibi (arithmetic mean:  $0.22 \pm 0.29 \mu\text{g/kg bw/day}$ ). For LSP, where catch constituted 68.5% of Hg intake (arithmetic mean:  $0.12 \pm 0.22 \mu\text{g/kg bw/day}$ ). Figure 2.2 shows the distribution of estimated daily Hg intake from the two ecosystems for men and women. No difference was observed in total Hg intake with respect to age, education, smoking status, alcohol consumption and family income.

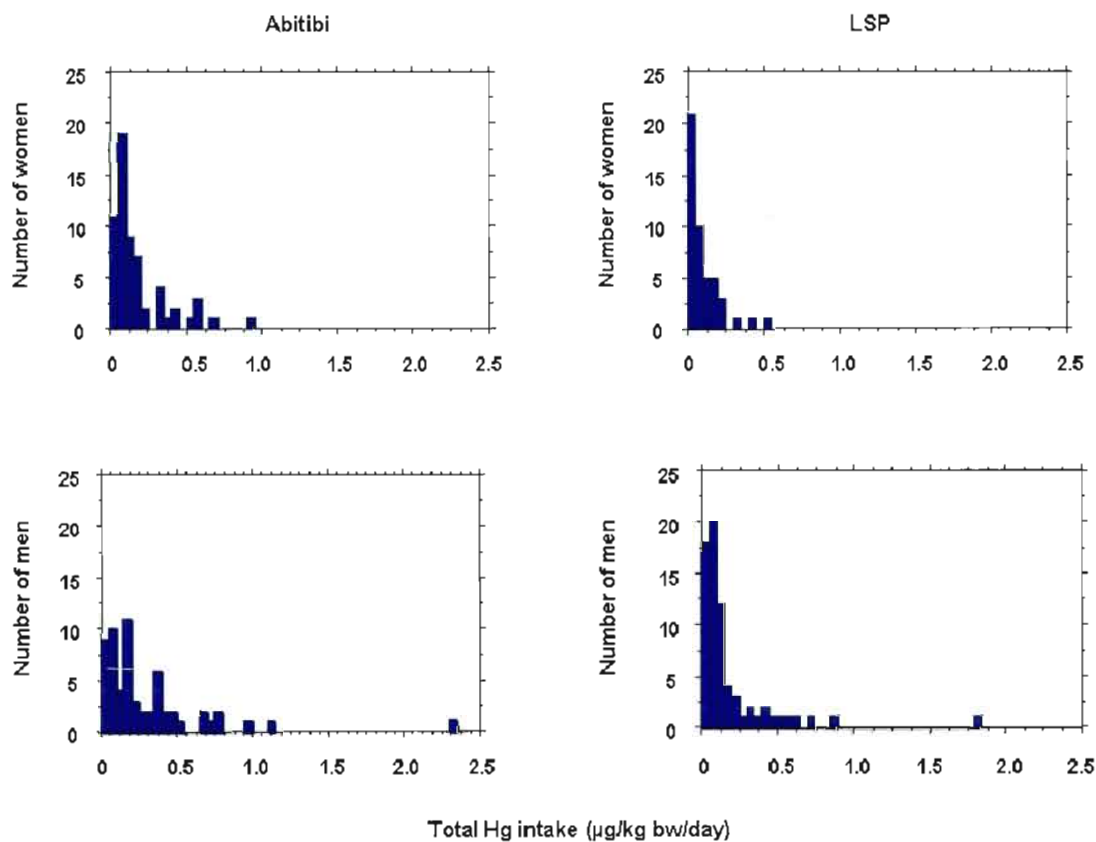
Tableau 2.5 Blood and hair mercury concentrations for Abitibi and LSP

	Min	25 <sup>th</sup>	50 <sup>th</sup>	75 <sup>th</sup>	Max	<i>p</i> <sup>a</sup>
<b>Blood Hg (<math>\mu\text{g/L}</math>)</b>						
<b>Total Hg</b>						
Abitibi	0.40	1.45	4.20	8.30	26.90	
LSP	0.20	0.60	1.40	3.30	17.00	<0.001
<b>Inorganic Hg</b>						
Abitibi	0.40	0.40	0.80	1.30	3.30	
LSP	0.20	0.20	0.40	0.65	2.70	<0.001
<b>Organic Hg</b>						
Abitibi	0.00	0.90	3.40	6.85	23.90	
LSP	0.00	0.30	1.10	2.85	14.30	<0.001
<b>Hair total Hg (ng/g)</b>						
Abitibi	26	292	730.5	1706	8161	
LSP	35	187	448	1039	5233	0.001

<sup>a</sup>Wilcoxon test.



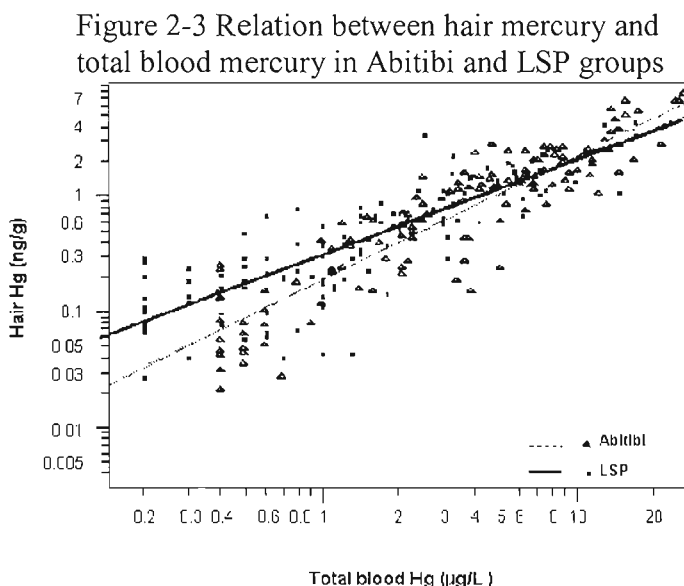
Figure 2-2 Distribution of daily Hg intake ( $\mu\text{g}/\text{kg}$  bw/day), based on questionnaire data and species-specific mercury concentration, for men and women in Abitibi and LSP.



Overall, the US EPA RfD ( $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$  bw/day) was exceeded in Abitibi by 59.5% of the study group in Abitibi and 41.0% in LSP. In Abitibi, significantly more men than women surpassed this limit (men: 68.3%; women: 50.8%;  $p < 0.05$ ), but in LSP, the frequencies were similar (men: 45.7%; women: 34.0%). The Canadian tolerable daily intake ( $0.47 \mu\text{g}/\text{kg}$  bw/day for adult men and non-pregnant women) was surpassed by 13.2% in Abitibi (men: 16.7%; women: 9.8%) and 6.0% in LSP (men: 8.6% and women: 2.1%). In all, 14.6% of women of childbearing age (18-45y) surpassed the Canadian tolerable daily intake of  $0.2 \mu\text{g}/\text{kg}$  bw/day.

## Biomarkers Hg exposure

Biomarkers of Hg exposure are presented in Table 2.5. All biomarkers of Hg were significantly ( $p < 0.01$ ) higher in Abitibi compared to LSP. In both groups, all blood biomarkers (THg, IHg, OHg) were highly correlated ( $p < 0.0001$ ) to HHg. Figure 2-3 presents the relation between THg and HHg for both groups. In Abitibi, THg, OHg, IHg and HHg were positively correlated to age ( $p < 0.01$ , R: Abitibi: 0.39, 0.42, 0.23 0.37). However, in LSP, only HHg was significantly correlated to age (R = 0.28;  $p < 0.01$ ). No correlation was observed between Hg biomarkers and the reported number of dental amalgams. In the two groups, no difference in Hg biomarker concentrations was observed between participants who consumed waterfowl and those who did not. No gender differences were observed for blood and hair Hg biomarkers or for the relation between THg and HHg.



### **Relation between fish consumption, Hg intake and Hg biomarkers**

Total Hg intake was positively correlated to HHg (Abitibi:  $R = 0.32$ ;  $p=0.0003$ , LSP:  $R = 0.42$ ;  $p<0.0001$ ) and to total blood Hg (Abitibi:  $R = 0.35$ ;  $p<0.0001$ , LSP:  $R = 0.32$ ;  $p=0.0004$ ). Table 2.6a and 2.6b show the results from the multiple regression models for Hg biomarkers (as dependant variables) with fish consumption or Hg intake as explanatory variables. Age and gender were included in all of the models. In the first models (Model 1), we included all of the sources, while in the second one (Model 2) we included total fish consumption (Table 2.6a) or estimated total Hg intake (Table 2.6b). For Model 1 (Table 2.6a), only freshwater fish entered significantly into the models for all Hg biomarkers. For total fish consumption (Model 2, Table 2.6a), only in LSP was the relation significant between total fish consumption and HHg, with a tendency for THg. No significant relation was observed between total fish consumption and all biomarkers of Hg exposure in Abitibi. The positive relation between freshwater fish consumption and blood IHg was surprising and we further examined it with regards to fish species. Only consumption of walleye was significantly ( $p<0.01$ ) related to blood IHg in both communities (Abitibi: Beta estimate = 0.18,  $R^2 = 0.19$ . LSP: Beta estimates = 0.23,  $R^2 = 0.16$ ).

Model 1 in Table 2.6b again showed the importance of freshwater catch for all Hg bioindicators, with strong associations in both communities. For total Hg intake (Model 2, Table 2.6b), all relations with Hg biomarkers were significant. Figures 2-4 and 2-5 present the log-transformed scatter plots for total Hg intake with respect to HHg and THg.

Tableau 2.6 Regression slope estimates (beta) for biomarkers of Hg (as dependant variables) in relation to (a) fish consumption and (b) estimated Hg intake from multiple regression models (Hg biomarkers, fish consumption and Hg intake were log transformed and models included age and ,gender; number of dental amalgams were included for IHg)

	HgH (ng/g)	HgT (ng/L)	OHg (ng/L)	IHg (ng/L)
<b>(a) Fish and waterfowl consumption (g/day)</b>				
Model 1	beta	beta	beta	beta
Freshwater fish				
Abitibi	0.27**	0.32***	0.37***	0.18**
LSP	0.31***	0.25**	0.20*	0.23***
Market fish				
Abitibi	-0.01	-0.13	-0.06	-0.03
LSP	0.08	-0.04	-0.03	-0.10
Waterfowl				
Abitibi	0.04	-0.09	-0.10	-0.06
LSP	-0.13	-0.09	-0.01	-0.04
Model 2				
Total fish				
Abitibi	0.14	0.13	0.11	0.09
LSP	0.41***	0.26 <sup>+</sup>	0.22	0.15
<b>(b) Hg intake (µg/kg bw/day)</b>				
Model 1	beta	beta	beta	beta
Freshwater fish				
Abitibi	0.22***	0.24***	0.27***	0.14***
LSP	0.27***	0.21**	0.18*	0.19***
Market fish				
Abitibi	0.05	-0.04	0.01	0.01
LSP	0.04	-0.05	-0.02	-0.01
Waterfowl				
Abitibi	0.26	0.05	0.13	0.20
LSP	0.06	-0.02	0.16	0.05
Model 2				
Total Hg intake <sup>a</sup>				
Abitibi	0.31**	0.32***	0.34**	0.17**
LSP	0.40***	0.31**	0.29*	0.23**

<sup>+</sup> <0.10. \*p < 0.05; \*\* p < 0.01; \*\*\* p < 0.001.

<sup>a</sup> Total Hg intake =Hg intake from fish and waterfowl

Figure 2-4 Relation between total Hg intake and hair Hg in Abitibi and LSP groups

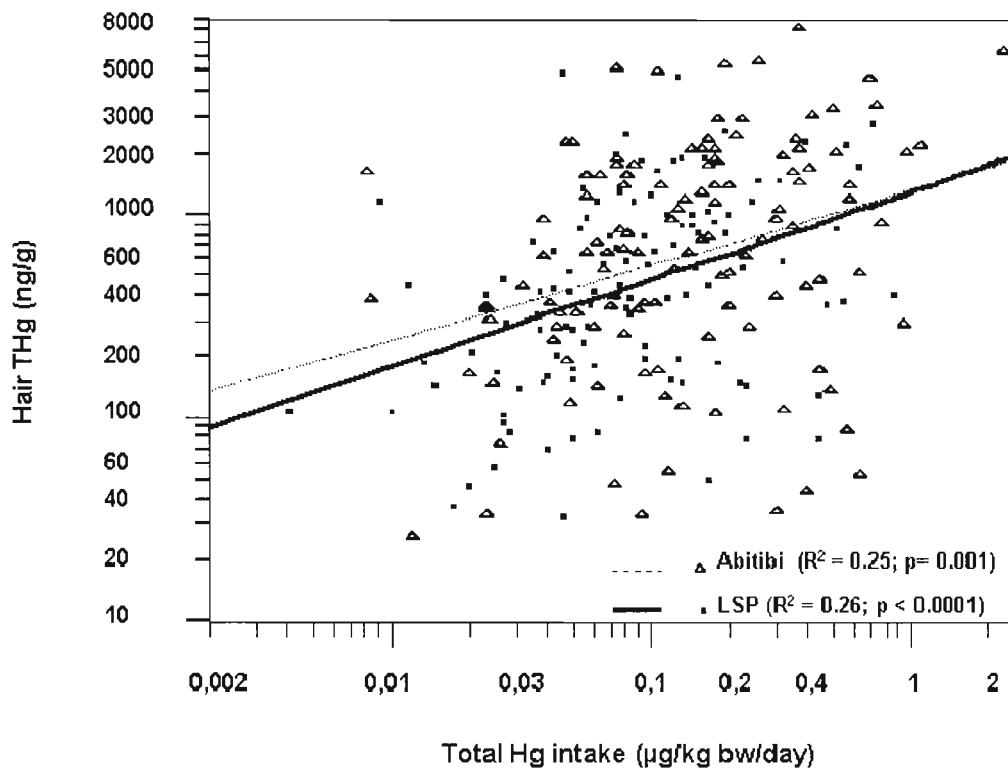
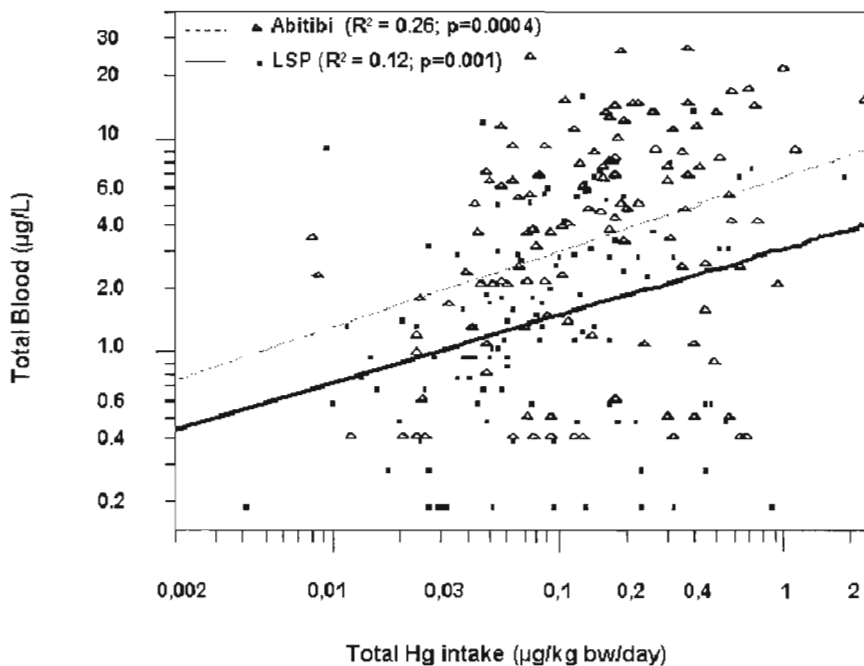


Figure 2-5 Relation between total Hg intake and total blood Hg in Abitibi and LSP group.



## Discussion

Although self-reported consumption of freshwater catch was higher in LSP compared to Abitibi, estimated Hg intake and biomarkers of exposure were significantly higher in Abitibi. Several factors could explain the differences between these two ecosystems. First, for the same species, there is an important difference in fish Hg concentrations. In the Abitibi region, studies have shown that fish growth rate is significantly slower, resulting in higher Hg accumulation; thus, fish of similar size are older and contain more Hg in Abitibi compared to LSP (Simoneau et al., 2005). Walleye reach the 0.5 µg/g commercialization limit at 300 mm in Lake Malartic, 400 mm in Lake Duparquet, 460 mm in Lake Preissac and 625 mm in Lake Saint-Pierre (Simoneau et al; 2005). Second, in the LSP ecosystem, there is a larger diversity of

local fish species compared to Abitibi, and study participants consumed a larger variety of local fish. For example, the high end predator, walleye, was consumed by over 90% of participants in Abitibi, but only 67% in LSP, making up two thirds of total freshwater fish consumption in the former and one third in the latter. Northern pike, another fish with high Hg concentrations, was also consumed by proportionally more frequently by participants from Abitibi compared to LSP. Both communities ate similar amounts of market fish. It is also possible that the accuracy of self-reporting of fish consumption could vary between the two communities even though the FFQ was specifically adapted for these communities.

To estimate Hg intake, our calculations were based on actual data of fish Hg concentrations from the two ecosystems, and included only Hg concentrations in fish above the 'throw back' size. Burger et al. (2005) point out that if scientists collect fish in the same manner as fishers, contaminant analysis is more representative of the risk for fish consumers. To ensure better precision in the present study, each season was surveyed separately because there are important inter-seasonal differences in local fish consumption patterns. It should be noted that many families freeze fresh catch and consume it throughout the year. The fish consumption questionnaire was adapted for local fish species, but also included waterfowl, market fish and seafood. Portion size was standardized. Detailed food frequency questionnaires have rarely been applied in studies of dietary exposure and risk assessment (Tran et al., 2004); most studies use an average overall number of fish meals (Duchesne et al., 2004; Kosatsky et al., 2000; Mahaffey et al., 2004; Morrissette et al., 2004).

Despite our attempts to reflect Hg intake as closely as possible, a number of factors could contribute to possible error. These include: poor recall, particularly from one season to the next; the use of published data on Hg concentrations for market fish and seafood, which can differ with the region of capture of the fish and

seafood; the use of published data for waterfowl, which can also differ depending on where it is captured. Furthermore, there is the variability in Hg concentrations in local fish. Although we used mean values for fish caught in local lakes, excluding those below the “throw-back” limits, there is still a wide range in fish Hg concentrations for the same species. Furthermore, the relation between fish size and Hg concentration differed between lakes. It might be useful in fish frequency questionnaires to include, where possible, information on the size of catch.

In the present study, each person was weighed twice and the mean value was used in the estimate of Hg intake in  $\mu\text{g}/\text{kg}$  bw/day. Standardised weight used for different Hg advisories varies between 60 and 70 kg (ATSDR, 1999; ATSDR, 2006; NRC, 2000; US EPA, 2000; US EPA, 2001; Health Canada, 2007). Studies, where weight was effectively measured, show large variations within populations and from one population to another. Chan et al. (1999) reported means of 81 kg for men and 65 kg for women for the Kahnawake Mohawk Nation, who live on the banks of the St. Lawrence. In the Brazilian Amazon, Passos et al. (2008) reported mean values of  $60.8 \pm 10.1$  kg for men and  $52.9 \pm 9.5$  for women. In many studies, weight was not measured and a default weight value, usually 70 kg (Duchesne et al., 2004; Foran et al., 2005; Marien and Stern, 2005) or a self reported weight (Legrand et al., 2005) was used, which can introduce further error in Hg intake calculation. In the present study using 70 kg as standardized weight would have overestimated average intake for men by 11% and underestimated it for women by 6%.

Although our estimation of fish consumption was derived from an extensive and detailed fish frequency questionnaire, the relations between biomarkers of exposure and estimated Hg intake were consistently stronger than those using the quantity of fish consumed. It is noteworthy that for both communities, significant relations were observed for freshwater fish consumption and biomarkers of Hg exposure, but the only significant relation for total fish consumption and biomarkers



of Hg, was observed for HHg in LSP, suggesting that the number of total fish could be a poor surrogate for Hg exposure, particularly when there are large differences in fish Hg concentrations. The contribution of consumption and estimated Hg intake from market fish, seafood and waterfowl to biomarkers of exposure was not significant in either ecosystem, when taking into account the freshwater sources. However, when considering estimated Hg intake from all sources, the associations were significant for all of the biomarkers of Hg exposure, for both ecosystems.

In the present study, estimated Hg intake explained 26% and 25% of the variance for HHg in Abitibi and LSP respectively. Similar values were reported for fish eaters from the Brazilian Amazon, where Hg intake explained 23% of the variance of HHg (Passos et al., 2008). The correlation coefficients observed here between estimated Hg intake and HHg (0.32 for Abitibi and 0.42 for LSP:  $R = 0.42$ ) were also similar to those reported by others: 0.30 for a group of Canadian coastal fish consumers (Legrand et al., 2005), 0.36 for fish-eaters from French Guiana (Frery et al., 2001) and 0.34 for Japanese women (Iwasaki et al., 2003)

Estimated Hg intake only explained 26% and 12% of the variance of blood total Hg in Abitibi and LSP, respectively. This is in the range of that reported by Mahaffey et al. (2004) for women of reproductive age using the NHANES data and much lower than the 40% reported by Passos et al. (2008) for the Brazilian Amazon. These differences probably reflect the time period that was covered by the survey. The present study survey covered a three-month period, while the NHANES survey was over 30 days and the Brazilian study targeted consumption over the past 7 days. Blood Hg reflects short term exposure and averaging intake over a three months period increases the probability of error. The half life of blood Hg is estimated at 70 days (Inskip and Piotrowski, 1985), but can vary between 40 and 190 days (Sherlock et al., 1984; Birke et al., 1972).

Difference in the variance of blood Hg can also reflect the accuracy and ability to recall fish consumption over the period assessed (Mahaffey et al., 2004).

An interesting finding of the present study is the relation between Hg intake from freshwater fish and blood IHg. This is similar to the results of Berglund et al. (2005), who reported that IHg which ranged between 3.3% and 24% of total Hg in red blood cells in a group of 28 persons from Sweden, increased with increasing fish consumption. In our study, when assessed by species, IHg was related only to consumption of the carnivorous walleye. Passos et al. (2007) reported a significant association between consumption of freshwater carnivorous fish and blood IHg as well as urinary total Hg in the Brazilian Amazon. Other studies have likewise observed a positive and significant relation between fish consumption and urinary Hg (Apostoli et al., 2002; Carta et al., 2003; Johnsson et al., 2005; Levy et al., 2004). These authors have attributed this to MeHg demethylation in the body (Clarkson, 2002; Ganther and Sunde, 2007), or to absorption of IHg, which has been shown to be high in some carnivorous fish species (Holsbeek et al., 1997; Ikingura and Akagi, 2003; Maurice-Bourgoin et al., 2000). Similar to the findings of Berglund et al. (2005), no relation was observed in the present study between dental amalgams and blood IHg, although others have reported associations (for review see: Clarkson and Magos, 2006; Huggins, 2007).

Contrary to Kosatsky et al. (2000), who examined a group of St. Lawrence River sports fish consumers, where those who reported eating waterfowl (yes/no) had blood Hg concentrations 97% higher concentrations than those who did not, in the present study, we did not observe an association between consumption of waterfowl and Hg biomarkers nor a difference in Hg levels between those who consumed waterfowl and who did not. This may be explained by the low quantities of waterfowl consumed by persons in the present study and the low Hg levels in the species consumed.

In LSP and Abitibi, mergansers; waterfowl with the highest Hg levels (Braune et al., 1999), were not reported to be consumed by either of the two study groups.

Hg intake through waterfowl consumption in the two ecosystems here was lower than the Saint Lawrence hunters study (Duchesne et al., 2004) where the highest Hg intake calculated through waterfowl consumption was 0.13ug/kg/d. In the latter study, which included hunters from different areas along the St.Lawrence, the authors estimated that 43% exceeded 0.1 µg/kg bw/day through consumption of sports fish, waterfowl, plus a background Hg exposure concentration estimated at 0.084 µg/kg bw/day. It is interesting to note that for the group in the present study that eats fish from the St. Lawrence (LSP), we arrived at a similar estimate, where 43.8% exceeded 0.1 µg/kg bw/day.

When considering risks and benefits of fish consumption, it should be noted that for this population, no relation was observed between freshwater catch consumption and serum n-3 fatty acid concentrations (Philibert et al., 2006). The highest fish consumers presented the lowest serum n-3 fatty acids, similar to the occasional fish consumers (Philibert et al., 2006), indicating that contrary to popular belief, these fish consumers are not benefiting from increased omega-3 intake through consumption of lean, freshwater local fish. Although there is little information on the other nutrients that these fish may contain, fishing remains an important recreational activity and a relatively important food source for the communities who participated in the present study.

The findings here show that because of their ecosystem, the Abitibi fish-eaters are more at risk compared to those who ate fish from the St. Lawrence River, which is considered an area of concern. Indeed, several studies have targeted populations living along the St. Lawrence (Duchesne et al., 2004; Kosatsky et al., 2000; Kosatsky et al., 1999; Mahaffey et al., 2004; Morrissette et al., 2004; Nadon et al., 2002), but

few studies have examined non-indigenous communities living in Northern Quebec. Advisories for local fish consumption in Quebec are lake and species specific, in Abitibi, 30% of the participants exceeded the recommended intake for walleye, while in LSP, it was only 4%, suggesting that in the Abitibi region, fish advisories are less heeded. Several reasons may explain these differences, including fish availability, fish-eating patterns and the lack of studies in this area, which is not considered problematic.

In these two ecosystems, local factors, such as deforestation (Garcia and Carignan, 2005; Garcia et al., 2007) and the rate of methylation and bioaccumulation in the food web (Desrosiers et al., 2006; Gorski et al., 2003) influence Hg concentrations in fish resources. Intervention strategies should not focus solely on limiting fish consumption but also target the reduction of Hg levels in fish by diminishing emissions and by acting on the factors that favor mercury release into the waters, and those that accelerate or inhibit its passage through the food web.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

We gratefully acknowledge for their collaboration the following organisations: Lake St-Pierre Fishers Association, Comité ZIP du Lac Saint-Pierre, Sauvaginaires, the regional and national governmental agencies of Health and Environment, as well as the local communities, H el ene Lemieux and Marie-Eve Thibault. This study was funded by the National Science and Engineering Research Council (NSERC) of Canada through the Collaborative Mercury Research Network (COMERN).

**REFERENCES**

- Apostoli P, Cortesi I, Mangili A, Elia G, Drago I, Gagliardi T, et al. Assessment of reference values for mercury in urine: the results of an Italian polycentric study. *Sci Total Environ* 2002; 289: 13-24.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological profile for mercury. 1999. Atlanta, GA. US Department of Health and Human Services, Public Health Service. Available: [www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp46.html](http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp46.html) (accessed: January 2007)
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Interaction profile for : Chlorpyrifos, lead, mercury and methylmercury. 2006. Atlanta, GA. 93p.
- Bates CJ, Prentice A, Birch MC, Delves HT, Sinclair KA. Blood indices of selenium and mercury, and their correlations with fish intake, in young people living in Britain. *Br J Nutr* 2006; 96: 523-31.
- Berglund M, Lind B, Bjornberg KA, Palm B, Einarsson O, Vahter M. Inter-individual variations of human mercury exposure biomarkers: a cross-sectional assessment. *Environ Health* 2005; 4: 20.
- Bernadette A. Taking stock: A profile of Canada's aquaculture industry. 2005. Available: <http://www.statcan.ca/bsolc/english/bsolc?catno=21-004-X20050058671>.
- Birke G, Johnels AG, Plantin LO, Sjostrand B, Skerfving S, Westermark T. Studies on humans exposed to methyl mercury through fish consumption. *Arch Environ Health* 1972; 25: 77-
- Bloom, N., Fitzgerald, W.F., 1988. Determination of volatile mercury species at the picogram level by low temperature gas chromatography with cold vapor atomic fluorescence detection. *Analytica Chimica Acta* 208, 151-161.
- Braune, B. M., B. J. Malone, N. M. Burgess, J. E. Elliott, N. Garrity, J. Hawkings, J. Hines, H. Marshall, W. K. Marshall, J. Rodrigue, B. Wakeford, M. Wayland, D. V. Weseloh and P. E. Whitehead. 1999. Chemical residues in waterfowl and gamebirds harvested in Canada, 1987-1995. Canadian Wildlife Service Technical Report 326.

- Burger J, Gochfeld M. Mercury in fish available in supermarkets in Illinois: are there regional differences. *Sci Total Environ* 2006; 367: 1010-6.
- Burger J, Stern AH, Dixon C, Jeitner C, Shukla S, Burke S, et al. Fish availability in supermarkets and fish markets in New Jersey. *Sci Total Environ* 2004; 333: 89-97.
- Burger J, Stern AH, Gochfeld M. Mercury in commercial fish: optimizing individual choices to reduce risk. *Environ Health Perspect* 2005; 113: 266-71.
- Carta P, Flore C, Alinovi R, Ibba A, Tocco MG, Aru G, et al. Sub-clinical neurobehavioral abnormalities associated with low level of mercury exposure through fish consumption. *Neurotoxicology* 2003; 24: 617-23.
- Chan HM, Trifonopoulos M, Ing A, Receveur O, Johnson E. Consumption of freshwater fish in Kahnawake: risks and benefits. *Environ Res* 1999; 80: S213-S222.
- Clarkson TW. The three modern faces of mercury. *Environ Health Perspect* 2002; 110 Suppl 1: 11-23.
- Clarkson TW, Magos L. The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Crit Rev Toxicol* 2006; 36: 609-62.
- Collaborative Mercury Research Network (COMERN). 2007. Available: <http://www.unites.uqam.ca/comern>. (Accessed: october 2007).
- Dabeka R, McKenzie AD, Forsyth DS, Conacher HB. Survey of total mercury in some edible fish and shellfish species collected in Canada in 2002. *Food Addit Contam* 2004; 21: 434-40.
- Desrosiers M, Planas D, Mucci A. Total mercury and methylmercury accumulation in periphyton of Boreal Shield lakes: influence of watershed physiographic characteristics. *Sci Total Environ* 2006; 355: 247-58.
- Duchesne JF, Levesque BB, Gauvin D, Braune B, Gingras S, Dewailly EE. Estimating the mercury exposure dose in a population of migratory bird hunters in the St. Lawrence River region, Quebec, Canada. *Environ Res* 2004; 95: 207-14.
- Environment Canada, Rapport-Synthèse sur l'État du St-Laurent. 1996. Vol. 1. Écosystème du St-Laurent, Editions Multimondes. Centre St-Laurent, Canada.

- Evans MS, Lockhart WL, Doetzel L, Low G, Muir D, Kidd K, et al. Elevated mercury concentrations in fish in lakes in the Mackenzie River Basin: the role of physical, chemical, and biological factors. *Sci Total Environ* 2005; 351-352: 479-500.
- Foran JA, Carpenter DO, Hamilton MC, Knuth BA, Schwager SJ. Risk-based consumption advice for farmed Atlantic and wild Pacific salmon contaminated with dioxins and dioxin-like compounds. *Environ Health Perspect* 2005; 113: 552-6.
- Forsyth DS, Casey V, Dabeka RW, McKenzie A. Methylmercury levels in predatory fish species marketed in Canada. *Food Addit Contam* 2004; 21: 849-56.
- Frery N, Maury-Brachet R, Maillot E, Deheeger M, de Merona B, Boudou A. Gold-mining activities and mercury contamination of native amerindian communities in French Guiana: key role of fish in dietary uptake. *Environ Health Perspect* 2001; 109: 449-56.
- Ganther HE, Sunde ML. Factors in fish modifying methylmercury toxicity and metabolism. *Biol Trace Elem Res* 2007; 119: 221-33.
- Garcia E, Carignan R. Mercury concentrations in fish from forest harvesting and fire-impacted Canadian Boreal lakes compared using stable isotopes of nitrogen. *Environ Toxicol Chem* 2005; 24: 685-93.
- Garcia E, Carignan R, Lean DR. Seasonal and inter-annual variations in methyl mercury concentrations in zooplankton from boreal lakes impacted by deforestation or natural forest fires. *Environ Monit Assess* 2007; 131: 1-11.
- Gill US, Schwartz HM, Bigras L. Results of multiyear international interlaboratory comparison program for mercury in human hair. *Arch Environ Contam Toxicol* 2002; 43: 466-72.
- Gorski PR, Cleckner LB, Hurley JP, Sierszen ME, Armstrong DE. Factors affecting enhanced mercury bioaccumulation in inland lakes of Isle Royale National Park, USA. *Sci Total Environ* 2003; 304: 327-48.
- Health Canada, The Health and Environment Handbook for Health Professionals: Health and Environment. 1998. Health Canada.
- Holsbeek L, Das HK, Joiris CR. Mercury speciation and accumulation in Bangladesh freshwater and anadromous fish. *Sci Total Environ* 1997; 198: 201-10.



- Huggins HA. Medical implications of dental mercury: a review. *Explore (NY)* 2007; 3: 110-7.
- Ikingura JR, Akagi H. Total mercury and methylmercury levels in fish from hydroelectric reservoirs in Tanzania. *Sci Total Environ* 2003; 304: 355-68.
- Inskip MJ, Piotrowski JK. Review of the health effects of methylmercury. *J Appl Toxicol* 1985; 5: 113-33.
- Iwasaki Y, Sakamoto M, Nakai K, Oka T, Dakeishi M, Iwata T, et al. Estimation of daily mercury intake from seafood in Japanese women: Akita cross-sectional study. *Tohoku J Exp Med* 2003; 200: 67-73.
- Johnsson C, Schutz A, Sallsten G. Impact of consumption of freshwater fish on mercury levels in hair, blood, urine, and alveolar air. *J Toxicol Environ Health A* 2005; 68: 129-40.
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Summary and conclusions of the sixty-first meeting on food additives, Rome. 2003. Available: [www.who.int/pcs/jecfa/jecfa.htm](http://www.who.int/pcs/jecfa/jecfa.htm). (Accessed: February 2007).
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Summary and conclusions of the sixty-first meeting on food additives, Rome. 2003. Available: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/jecfa/jecfa61sc.pdf>. (Accessed: January, 2007).
- Kosatsky T, Przybysz R, Armstrong B. Mercury exposure in Montrealers who eat St. Lawrence River sportfish. *Environ Res* 2000; 84: 36-43.
- Kosatsky T, Przybysz R, Shatenstein B, Weber JP, Armstrong B. Fish consumption and contaminant exposure among Montreal-area sportfishers: pilot study. *Environ Res* 1999; 80: S150-S158.
- Laliberté D. Évolution des teneurs en mercure et en BPC de quatre espèces de poissons du Saint-Laurent. 2004. Available: [http://www.menv.gouv.qc.ca/eau/eco\\_aqua/fleuve/4esp-poissons/st-laurent-4esp-poissons.pd](http://www.menv.gouv.qc.ca/eau/eco_aqua/fleuve/4esp-poissons/st-laurent-4esp-poissons.pd). (Accessed: January, 2007).
- Legrand M, Arp P, Ritchie C, Chan HM. Mercury exposure in two coastal communities of the Bay of Fundy, Canada. *Environ Res* 2005; 98: 14-21.
- Levy M, Schwartz S, Dijak M, Weber JP, Tardif R, Rouah F. Childhood urine mercury excretion: dental amalgam and fish consumption as exposure factors. *Environ Res* 2004; 94: 283-90.

- Lima AP, Sarkis JE, Shihomatsu HM, Muller RC. Mercury and selenium concentrations in fish samples from Cachoeira do Piria Municipality, ParaState, Brazil. *Environ Res* 2005; 97: 236-44.
- Mahaffey KR, Clickner RP, Bodurow CC. Blood organic mercury and dietary mercury intake: National Health and Nutrition Examination Survey, 1999 and 2000. *Environ Health Perspect* 2004; 112: 562-70.
- Mahaffey KR, Clickner RP, Jeffries RA. Methylmercury and omega-3 fatty acids: Co-occurrence of dietary sources with emphasis on fish and shellfish. *Environ Res* 2007.
- Mahaffey KR, Mergler D. Blood levels of total and organic mercury in residents of the upper St. Lawrence River basin, Quebec: association with age, gender, and fish consumption. *Environ Res* 1998; 77: 104-14.
- Marien K, Stern AH. An examination of the trade-offs in public health resulting from the use of default exposure assumptions in fish consumption advisories. *Environ Res* 2005; 98: 258-
- Marrugo-Negrete J, Verbel JO, Ceballos EL, Benitez LN. Total mercury and methylmercury concentrations in fish from the Mojana region of Colombia. *Environ Geochem Health* 2007.
- Maurice-Bourgoin L, Quiroga I, Chincheros J, Courau P. Mercury distribution in waters and fishes of the upper Madeira rivers and mercury exposure in riparian Amazonian populations. *Sci Total Environ* 2000; 260: 73-86.
- Mergler D, Anderson HA, Chan LH, Mahaffey KR, Murray M, Sakamoto M, et al. Methylmercury exposure and health effects in humans: a worldwide concern. *Ambio* 2007; 36: 3-11.
- Morrisette J, Takser L, St-Amour G, Smargiassi A, Lafond J, Mergler D. Temporal variation of blood and hair mercury levels in pregnancy in relation to fish consumption history in a population living along the St. Lawrence River. *Environ Res* 2004; 95: 363-74.
- Mozaffarian D, Rimm EB. Fish intake, contaminants, and human health: evaluating the risks and the benefits. *Jama* 2006; 296: 1885-99.
- Muir D, Wang X, Bright D, Lockhart L, Kock G. Spatial and temporal trends of mercury and other metals in landlocked char from lakes in the Canadian Arctic archipelago. *Sci Total Environ* 2005; 351-352: 464-78.

- Nadon S, Kosatsky T, Przybysz R. Contaminant exposure among women of childbearing age who eat St. Lawrence River sport fish. *Arch Environ Health* 2002; 57: 473-81.
- National Research Council (NRC).. Toxicological effects of methylmercury. 2000. National Research Council. National Academy Press, Washington, DC. 368 p.
- Passos CJ, Da Silva DS, Lemire M, Fillion M, Guimaraes JR, Lucotte M, et al. Daily mercury intake in fish-eating populations in the Brazilian Amazon. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2008; 18: 76-87.
- Passos CJ, Mergler D, Lemire M, Fillion M, Guimaraes JR. Fish consumption and bioindicators of inorganic mercury exposure. *Sci Total Environ* 2007; 373: 68-76.
- Philibert A, Vanier C, Abdelouahab N, Chan HM, Mergler D. Fish intake and serum fatty acid profiles from freshwater fish. *Am J Clin Nutr* 2006; 84: 1299-307.
- Pichet, P., Morrison, K., Rheault, I., Tremblay, A., 1999. Analysis of total mercury and methylmercury in environmental samples. In: Lucotte, M., Schetagne, R., The' rien, N., Langlois, C., Tremblay, A. (Eds.), *Mercury in the Biogeochemical Cycle: Natural Environments and Hydroelectric Reservoir of Northern Que' bec (Canada)*. Springer, Berlin, pp. 41-52.
- Renzoni A, Zino F, Franchi E. Mercury levels along the food chain and risk for exposed populations. *Environ Res* 1998; 77: 68-72.
- Rice DC, Schoeny R, Mahaffey K. Methods and rationale for derivation of a reference dose for methylmercury by the U.S. EPA. *Risk Anal* 2003; 23: 107-15.
- Rice G, Swartout J, Mahaffey K, Schoeny R. Derivation of U.S. EPA's oral Reference Dose (RfD) for methylmercury. *Drug Chem Toxicol* 2000; 23: 41-54.
- Saint-Laurent. Vision 2000. Portrait global de l'état du Saint-Laurent. 2003. Available: [http://www.slv2000.qc.ca/plan\\_action/phase3/biodiversite/suivi\\_ecosysteme/fiches/Portrait\\_global\\_f.pdf](http://www.slv2000.qc.ca/plan_action/phase3/biodiversite/suivi_ecosysteme/fiches/Portrait_global_f.pdf). (Accessed: October 2007)
- Health Canada. Évaluation des risques pour la santé liés au mercure présent dans le poisson et bienfaits pour la santé associés à la consommation de poisson. 2007. Bureau d'innocuité des produits chimiques. Direction des aliments. Direction générale des produits de santé et des aliments. Ottawa. 83 p.

- SAS Institute Inc. SAS/STAT User's Guide. 1999.version 8: Cary, NC,.
- Scheuhammer AM, Meyer MW, Sandheinrich MB, Murray MW. Effects of environmental methylmercury on the health of wild birds, mammals, and fish. *Ambio* 2007; 36: 12-8.
- Sherlock J, Hislop J, Newton D, Topping G, Whittle K. Elevation of mercury in human blood from controlled chronic ingestion of methylmercury in fish. *Hum Toxicol* 1984; 3: 117-31.
- Simoneau M, Lucotte M, Garceau S, Laliberte D. Fish growth rates modulate mercury concentrations in walleye (*Sander vitreus*) from eastern Canadian lakes. *Environ Res* 2005; 98: 73-82.
- Stern AH, Smith AE. An assessment of the cord blood:maternal blood methylmercury ratio: implications for risk assessment. *Environ Health Perspect* 2003; 111: 1465-70.
- Sunderland EM. Mercury exposure from domestic and imported estuarine and marine fish in the U.S. seafood market. *Environ Health Perspect* 2007; 115: 235-42.
- Tran NL, Barraj L, Smith K, Javier A, Burke TA. Combining food frequency and survey data to quantify long-term dietary exposure: a methyl mercury case study. *Risk Anal* 2004; 24: 19-30.
- United States Environmental Protection Agency (US EPA). A Review of the Reference Dose and Reference Concentration Processes. 2003. US EPA/630/P-02/002F, December 1, 2002. Risk Assessment Forum, Washington, DC, 192pp. Available: <http://www.epa.gov/iris/subst/0073.htm>. (Accessed: September 2007)
- United States Environmental Protection Agency (US EPA). Guidance for Assessing Chemical Contaminant Data for Use in Fish Advisories. Volume 2: Risk Assessment and Fish Consumption Limits Third Edition. 2000. EPA-823-B-00-008. Office of Science and Technology Office of Water, Washington, DC.
- United States Environmental Protection Agency (US EPA). Water quality criterion for the protection of human health: Methyl mercury. Washington, DC. 2001. Available: [www.epa.gov/waterscience/criteria/methylmercury](http://www.epa.gov/waterscience/criteria/methylmercury). (Accessed: February 2008)
- United States Food and Drug Administration. Mercury Concentrations in Fish: FDA Monitoring Program (1990-2004). 2004. Washington, DC: Food and Drug

Administration. Available: <http://www.cfsan.fda.gov/~frf/seamehg2.html>.  
(Accessed: October 2007)

## **CHAPITRE III**

### **GENDER DIFFERENCES IN THE EFFECTS OF ORGANOCHLORINES, MERCURY AND LEAD ON THYROID HORMONE LEVELS IN LAKESIDE COMMUNITIES OF QUEBEC (CANADA)**

Nadia Abdelouahab ; Donna Mergler ; Larissa Takser ; Claire Vanier ;  
Melissa St-Jean ; Mary Baldwin ; Philip.A Spear ; Hing Man Chan .

Publié dans la revue Environmental research en juillet 2008  
Vol 107 (3) : 380-392

## RÉSUMÉ

Les polluants environnementaux peuvent perturber la balance endocrinienne, en particulier l'homéostasie des hormones thyroïdiennes (HT). Cependant, la modification des profils des HT selon le genre est rarement examinée par les études. La présente étude a examiné la relation entre les HT, triiodothyronine (T3), thyroxine (T4) et la thyroid stimulating hormone (TSH) avec les organochlorés sériques, les bioindicateurs du Hg et le plomb sanguin (Pb) chez 211 (124 hommes et 87 femmes) consommateurs de poisson d'eau douce issues de deux communautés au Canada. Les HT étaient dans les limites normales et les niveaux des bioindicateurs d'exposition étaient bas comparativement à ceux d'autres consommateurs de poisson d'eau douce. Les analyses stratifiées ont montré que, chez les femmes, les concentrations sériques de T3 étaient négativement reliées aux concentrations sériques des BPC-138, BPC-153, les congénères non-coplanaires, l'Arochlor 1260, la  $\Sigma$ BPC, ainsi que le *p,p'*-DDE. Aucune relation n'a été observée entre la T4 et les polluants mesurés, cependant, la TSH était négativement reliée au Pb sanguin. Pour les hommes, la T4 sérique était inversement reliée aux BPC 138, les BPC non-*ortho*-substitués (dioxine-like) et la  $\Sigma$ BPC. Une relation significativement positive a été observée entre la TSH sérique et différents congénères de BPC (BPC 138, BPC 180, congénères non coplanaires, congénères mono-*ortho* coplanaires, les BPC dioxine-like, ainsi que la  $\Sigma$ PCB. La TSH sérique augmentait en relation avec le Hg dans les cheveux et le Hg sanguin. La TSH était plus élevée chez les sujets ayant des concentrations de Hg et de PCB dioxine-like plus élevées que le 50<sup>ème</sup> percentile. Aucune association avec la T3 n'a été observée chez les hommes. Ces constatations suggèrent que, malgré les faibles concentrations, ces contaminants environnementaux peuvent interférer avec la fonction thyroïdienne et que les effets pourraient être différents selon le genre.

## ABSTRACT

Environmental chemicals can disrupt endocrine balance and in particular thyroid hormone (TH) homeostasis. However studies differ with respect to thyroid profile changes and gender differences are rarely examined. This study investigated the THs, triiodothyronine (T3), thyroxine (T4) and thyroid stimulating hormone (TSH), in relation to serum organochlorines (OCs), bioindicators of mercury (Hg) and blood lead (Pb) in 211 freshwater fish consumers (124 men and 87 women) from 2 communities in Canada. THs were within the normal range and the bioindicators of exposure were low compared to other reports on fish consumers. Stratified analysis showed that for women, serum T3 concentrations were negatively related to serum concentrations of PCB-138, PCB-153, the non-coplanar congeners, Arochlor 1260, and  $\Sigma$ PCB, as well as *p,p'*-DDE. No relations were observed between T4 and any of the chemicals measured, but TSH was negatively related to blood Pb. For men, serum T4 was inversely related to PCB 138, non-*ortho*-substituted (dioxin-like) PCBs and  $\Sigma$ PCB. A significant positive relationship was observed between serum TSH and different PCB congeners (PCB 138, PCB 180, non coplanar congeners, mono-*ortho* coplanar congeners, dioxin-like PCBs), as well as  $\Sigma$ PCB. Serum TSH increased with hair and blood Hg concentrations and was highest among those in the highest 50<sup>th</sup> percentile for both Hg and dioxin-like PCB congeners compared to the others. No associations were observed for T3 in men. These findings suggest that even at low concentrations, these environmental contaminants can interfere with thyroid status and effects may differ by gender.



## INTRODUCTION

Although many pollutants are known to alter thyroid homeostasis, relatively little attention has been given to gender differences. Women and men not only have different hormonal balances throughout their lifespan, but can also have very different exposure experiences, resulting in different profiles and levels in body burden of contaminants (Vahter et al., 2002; Vahter et al., 2006).

A number of studies have examined the relationships between organochlorine (OCs) exposure and thyroid hormones (THs) levels in human populations. The majorities are from child cohort studies, which relate PCB exposure to neonate TH concentrations and neurodevelopmental outcomes (for review: Brouwer et al., 1999). There are relatively few studies on adults and adolescents. Table 3.1 provides a summary of these studies with respect to gender. Some assessed only men, others only women, while a few grouped men and women together. Only three studies, including the recent study using data from the National Health and Nutrition Examination Survey (Turyk et al., 2007), examined men and women separately from the same population. Most studies report associations between OC concentrations and one or more of the THs, but results are inconsistent. Several studies report decreases in triiodothyronine (T3) and thyroxine (T4) with increasing OCs but for different congeners. All studies that examined T3 in women, showed an inverse association with OCs, but results for T4 and TSH in men and women are inconsistent. Nonetheless, it is difficult to compare results between studies since exposure profiles; exposure ranges and choice of measured bioindicators often differ. Furthermore, two of the studies for women assessed the relations at pregnancy, during which there are important gestational-related variations in thyroid status (Glinioer, 1999; Lazarus and Kokandi, 2000).

**Tableau 3.1** Human adults and adolescent studies of Organochlorines (PCBs and OCPs) and effects on thyroid hormone level

Gender	PCBs/POCs	TSH	T3	T4	Auteur/year
<b>Men only</b>					
341	Background exposure <b>Geo mean (ng/g lipid)</b> . PCB 138: 33.2; PCB 153: 42.6; $\Sigma$ PCB: 222; $\Sigma$ dioxin-like: 80.6; $\Sigma$ enzyme-inducer: 90.6; $\Sigma$ estrogenic PCBs: 16.1; Hexachlorobenzene (HCB): 15.6	No effect	$\downarrow$ PCB138, PCB 153, $\Sigma$ PCB, $\Sigma$ dioxin-like, $\Sigma$ estrogenic-PCBs, $\Sigma$ enzyme-inducer, $\downarrow$ HCB	No effect	Meeker et al., 2007 <sup>1</sup>
56	Great Lakes fish consumers <b>Median (range) (ng/g lipid)</b> . $\Sigma$ PCB: 806 (168, 3104); DDE: 602 (99, 9499)	$\downarrow$ $\Sigma$ PCB	$\downarrow$ $\Sigma$ PCB, $\downarrow$ DDE	$\downarrow$ $\Sigma$ PCB $\downarrow$ DDE	Turyk et al., 2006 <sup>2</sup>
196	Fish consumers <b>Median (5<sup>th</sup> -95<sup>th</sup>) (ng/g lipid)</b> . PCB 153: 370 (110-1010); DDE: 580 (110-2140)	$\uparrow$ DDE	*	*	Rylander et al., 2006
66	State anglers NY <b>Mean (SD) (ng/g sample)</b> . PCB 153: 0.637 (0.34)	No effect	No effect	No effect	Bloom et al., 2003 <sup>11</sup>
16	Background exposure <b>Mean (SD) (<math>\mu</math>g/kg lipid)</b> . PCB 128: 4.4 (4.1); PCB 99: 14.4 (8.0); PCB 118: 20.9 (12.9); PCB 170: 15.1 (4.2)	*	$\downarrow$ PCB 28, PC B99, PCB 118, PCB 170	No effect	Pelletier et al., 2002 <sup>10</sup>
110	Fishermen <b>Median (ng/g lipid)</b> . $\Sigma$ PCB: 1750.5; DDE: 104.5	No effect	No effect	No effect	Hagmar et al., 2001 <sup>8</sup>
<b>Women only</b>					
101 pregnant women	Background exposure <b>Median (<math>\mu</math>g/l)</b> . PCB 138: 0.08; PCB 153: 0.09; PCB 180:0.05; DDE: 0.47; HCB: 0.06	No effect	$\downarrow$ PCB 138, PCB 153, PCB 180 $\downarrow$ DDE, Cis-nonachlor, HCB	No effect	Takser et al., 2005 <sup>3</sup>
182	Fishermen's wives <b>Median (ng/g lipids)</b> . PCB 153: 1.59	No effect	$\downarrow$ PCB 153	No effect	Hagmar et al., 2001 <sup>7</sup>

105 pregnant women	Background exposure	Mean (SD) (pg/kg lipid). PCB-Dioxin TEQ: 74.86 (26.19); Dioxin-TEQ: 32.06 (11.26); planar- PCB TEQ: 19.95 (8.54); nonplanar PCB TEQ: 22.75 (8.96).	No effect	↓ PCB-Dioxin TEQ, Dioxin- TEQ, planar- PCB TEQ, nonplanar PCB TEQ	↓ ΣPCB	Koopman – Esseboom et al., 1994
<b>Women &amp; men together</b>						
237 men 227 woman	Industrial pollution	<b>Median (ng/g). Σ PCBs: 1750</b>	↓ ΣPCB	*	*	Langer et al., 2006 <sup>9</sup>
249 men 359 women	Industrial pollution	<b>Mean (SD) (ng/ml). HCB: 89.3 (190.2), PCBs: 7.2 (13.2); HCB: 18.8 (8.3), 3.2 (3.0)</b>	No effect	*	↓ HCB	Sala et al., 2001 <sup>6</sup>
178 men 51 women	Great Lakes fish consumers	<b>Mean (ng/g lipid). ΣPCB: 822.2 ΣPCB: 304.9</b>	No effect No effect	No effect No effect	↓ ΣPCB ↓ ΣPCB	Persky et al., 2001 <sup>4</sup>
115 boys and girls	Akwesasne Mohawk youth	<b>Geo mean ( SD) (ppb): Σ PCBs: 0.43 (0.23)</b>	↑ ΣPCB	No effect	↓ ΣPCB	Shell et al., 2004 <sup>5</sup>
113 woman 155 men	NHANES	<b>Geo mean (PCB, DDE: ng/g lipid; ΣTEQ: pg/g lipid)</b> A*: ΣPCB: 139.8, DDE: 293.0, ΣTEQ: 12.3 B*: ΣPCB: 200.3, DDE: 337.0, ΣTEQ: 18.2	↓ ΣTEQ; ↑ DDE ↓ ΣTEQ	* *	↓ Σ PCB, ↑ DDE, ↓ ΣPCB	Tyryk et al., 2007 <sup>12</sup>

\* Not studied; \*\* A: 1999-2000 cycle, B: 2000-2001 cycle.. ΣPCBs: <sup>1</sup> 57 PCB congeners non cited; <sup>2</sup> 89 PCB congeners non cited; <sup>3</sup> 14 PCB congeners; <sup>4</sup> 89 PCB congeners; <sup>5</sup> 8 PCB congeners; <sup>6</sup> 8 PCB congeners; <sup>7</sup> 21 PCB congeners; <sup>8</sup> 15 PCB congeners; <sup>9</sup> 15 PCB congeners; <sup>10</sup> 14 PCB congeners; <sup>11</sup> 16 PCB congeners; <sup>12</sup> 20 PCB congeners.

Other contaminants such as metals have likewise been linked to thyroid disequilibrium. There is some evidence of altered thyroid homeostasis in relation to mercury (Hg) and lead (Pb). Changes in T3 and T4 concentrations were observed among male chloralkali workers exposed to inorganic Hg vapours (Barregard et al., 1994; Ellingsen et al., 2000, Barregard, 1994). Takser et al. (2005) observed an inverse relation between T3 and blood inorganic Hg among pregnant women even at very low dose. Effects of methylmercury (MeHg) has been examined in experimental studies, showing inhibition in type 2 deiodinase activity in *in vitro* studies (Mori et al., 2006b), as well as inhibition of brain type 3 deiodinase activity in neonatal mice exposed *in utero* (Mori et al., 2006a). A single injection of MeHg to male rats induced a transient decrease in serum T4 levels followed by an increase in serum TSH (Kabuto, 1986).

Occupational Pb exposure has also been associated with changes in thyroid status among men: gasoline pump and auto mechanic workers (Singh et al., 2000), workers in a lead battery plant (Lopez et al., 2000), and adolescents working in auto mechanics (Dundar et al., 2006). However, other studies on men occupationally exposed to Pb did not observe such effects (Erfurth et al., 2001; Gennart et al., 1992; Schumacher et al., 1998). No occupational or environmental studies on Pb and THs were found for women.

Fish consumption can be a major exposure route for many environmental pollutants. High fish consumers consistently show higher levels of Hg (for review: Mergler et al., 2007) and in some studies increased blood Pb has been associated with fish eating practices (Kosatsky et al., 2001; Mergler et al., 1998). Fish consumption has likewise been associated with increased serum PCBs (Fitzgerald et al., 2004; Kosatsky et al., 1999; Persky et al., 2001; Turyk et al., 2006a), although there are many other pathways for PCBs exposure from other food sources (Huwe and Larsen, 2005; O'Keefe et al., 2006; Weiss et al., 2005), environmental pollution (Hovander et

al., 2006; Langer et al., 2005) and occupational exposure (Ruder et al., 2006; Steenland et al., 2006). Organochlorine pesticides (OCPs), such as DDT, which have been banned in many countries, are still found in many fish and other foods and are present as *p,p'*-DDT or its metabolite *p,p'*-DDE in fatty tissue and blood in most populations (Beard, 2006; Stuetz, 2006).

The objective of this study was to examine the relation between bioindicators of OCs (PCBs and OCPs) and metals (Hg and Pb) with respect to thyroid status in men and women who consume freshwater fish from local lakes in Quebec, Canada.

## **METHOD**

### **Study Design and Population**

This study used a cross-sectional design and targeted freshwater fish-eaters from lakeside communities in two regions of Québec, Canada: Lake St-Pierre (LSP), a fluvial lake of the St-Lawrence River, and three lakes of North eastern Québec (Abitibi area). Participants (n = 259) were recruited in collaboration with regional fishers' associations. Eligibility criteria included age ( $\geq 18$  years) and self reported consumption of freshwater catch. The study was carried out in March - April 2003 in LSP, and in July - August 2003 in the Abitibi region. Serum OCs was only obtained for 239 persons due to loss of samples. *Post hoc* exclusion criteria included: use of thyroid medication (n=16); TH level  $\geq 3$  standard deviations above the mean (n=12) [TSH (n=3), T3 (n=3) and T4 (n=4)]; pregnancy (n=1) and incomplete annual Food Frequency Questionnaire (FFQ) (n=1). The final group included 211 persons (124 men and 87 women).

The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Université du Québec à Montréal and an informed consent form was signed by each participant.

### **Questionnaires**

A trained interviewer obtained information on fish consumption using an extensive food frequency questionnaire adapted from Legrand et al., (2005). Seasonal consumption (winter, spring, summer and fall) of specific fish species from local catch and market sources was recorded. Participants were asked how many meals and portions/meal they had consumed within the three-month period for each season. A portion size of 120 g was used for each fish species and daily fish intake was estimated (g/day) for each of the 57 fish species reported (19 freshwater and 38 marine).

Socio-demographic information was collected using a self-administered questionnaire, which included information on age, education, family income, drinking and smoking habits, occupation, occupational and recreational exposure to chemicals, medical history, medication and number of dental amalgams. Participants' height and weight were measured and body mass index was calculated (BMI) as weight (kg) / height (m<sup>2</sup>). In addition, participants were requested to bring all medication that they were currently taking. These were recorded by a registered nurse and then classified with respect to their pharmaceutical family.

### **Biological sampling and OC analyses**

For OCs (16 PCB congeners and 17 OCPs) analysis, blood was collected in 10 ml Vacutainer Hemogard tubes with EDTA (no. 7863), Becton-Dickinson, San Jose,

CA). Tubes were centrifuged at 1500 g for 20 min. The serum was then removed (top layer with a transfer pipette, transferred to 7 ml “crew-top” storage tubes (Supelco # 2-7341) and frozen at -20 °C. Laboratory analyses of PCBs and chlorinated pesticides were performed at the Centre for Indigenous Peoples' Nutrition and Environment, McGill University using a Gas chromatography-mass spectrometry (Varian Saturn Walnut Creek, CA). The extraction and cleanup protocols were performed as described by Covaci and Schepens. (2001) with the following modifications: labelled Chrysene (5 µl) was added as recovery standard to the final concentrate and DB-5MS, 5% phenylmethylpolysiloxane (30 m x 0.25 mm i.d. and 0.25 µm film thickness) was used as capillary column. The samples were loaded onto Varian 8200 CX auto sampler and 1 µl injections were made using the sandwich injection technique. Routine checks of accuracy and precision were performed using reference materials (1589a PCBs, Pesticides and Dioxins / Furans in Human Serum) from the National Institute of Standards and Technology (Gaithersburg, MD, USA). A blank sample was injected every 11 samples.

### **Lipid determination**

Plasma lipid determination was performed at the Research Centre for Lipid Disease of the Hospital Centre of Laval University. Total cholesterol was measured using the Olympus Cholesterol Method: Cholesterol esters in serum were hydrolysed by cholesterol esterase. The free cholesterol produced was oxidized by cholesterol oxidase to Cholest-4-3-one with simultaneously a production of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), which oxidatively coupled with 4- aminoantipyrine and phenol in the presence of peroxidase to yield a chromophore. The quinoneimine dye formed was measured spectrophotometrically at 540/600 nm (Allain et al., 1974). Free cholesterol and phospholipids were measured using in vitro enzymatic colorimetric methods

(WAKO, COD-PAP). Plasma total lipids were calculated using the formula reported by (Phillips et al., 1989), which can be applied to fasting and non fasting samples. Total lipids = 1.677 (total cholesterol – free cholesterol) + free cholesterol + triglycerides + phospholipids.

### **Hg and metals determination**

For metal analyses, blood samples were obtained by venipuncture in 10-ml metal-free Becton-Dickinson Vacutainer blood collection tubes with 0.05 ml of 15% EDTA K3. Samples were coded, stored at 4 °C and sent daily to the Quebec Center of Toxicology of the Quebec Institute for Public Health (CTQ-INSPQ). Total Hg (THg) and inorganic Hg (IHg) were analyzed by Cold Vapor Atomic Absorption Spectrophotometry using a mercury monitor (model 100; Pharmacia Instruments, Piscataway, NJ, USA). The limit of quantification was 0.2 µg/l. Organic Hg (MeHg) was calculated as the difference of THg and IHg. Total blood Pb, and selenium (Se) were analyzed using Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry. Detection limits were 2.1µg/dl for Pb and 7.9 µg/l for Se. Certified reference material was analyzed for quality control purposes. The CTQ-INSPQ is ISO 17025-accredited and analytical performance for Hg analysis in the Interlaboratory Comparison Program for Metals in Biological Media was 36/36 for precision and 6/6 for reproducibility.

### **Hair mercury**

Hair samples were collected from the occipital region of the head close to the scalp. The lock of hair was then stapled at the base and stored in identified ziploc bags until analysis. The hair strand was cut into consecutive centimeter segments.



Following sulfuric and nitric acid digestion of each segment, total hair Hg (HHg) was analysed by cold -vapor atomic fluorescence spectrometry (CV-AFS) at the laboratory of the Geochemistry and Geodynamics Research Centre (GEOTOP-UQAM-McGILL), according to the procedure described by Bloom and Fitzgerald (1988). Detection limit was 1 ng/g and quantification limit was 3 ng/g. Precision and accuracy of Hg determination were ensured by using an internal hair standards provided by the International Atomic Energy Agency (Analytical Quality Control Services) and a two blanks were added to each series. The GEOTOP lab participates in an inter-laboratory comparison program for mercury in human hair. Fifty of the 54 standard samples (92.5%) were within one standard deviation and the other four were within two standard deviations (Gill et al., 2002). For the present analyses, the mean of the first 3 cm was used.

### **Thyroid hormone determination**

Thyroid Stimulating hormone (TSH), total T3 (T3) and total T4 (T4) were analyzed by radioimmunoassay (Forest et al., 1998) at the laboratory of the Centre for Environmental Toxicology (TOXEN, UQAM).

### **Statistical analysis**

Descriptive statistics were performed to characterize socio-demographic parameters, TH levels and bioindicator concentrations for men and women separately. Comparisons between men and women were carried out using parametric and non-parametric tests, where appropriate. All analyses were stratified by sex. For

samples where concentrations were undetectable, the value of LOD/2 was applied, but analyses were likewise performed using zero for undetectable congeners in the summed values. Because of their skewed distribution, OC and metal concentrations and fish consumption were log-transformed for parametric analyses.

We limited our statistical analyses to the most prevalent compounds (PCB 138, PCB 153, PCB 180 and *p,p'*-DDE and the following congener families: non-coplanar congeners (PCB 138, PCB 153, PCB 180), mono-*ortho* coplanar congeners (PCB 105, PCB 118, PCB 156), non-ortho-substituted (dioxin-like) PCBs (PCB 105, PCB 118, PCB 128, PCB 138, PCB 170), Arochlor 1260 ((PCB 138 + PCB 153)\*5.2) and  $\Sigma$ PCB (PCB 31-28, PCB 52, PCB 74, PCB 99, PCB 101, PCB 105, PCB 118, PCB 128, PCB 138, PCB 149, PCB 153, PCB 156, PCB 170, PCB 180, PCB 183, PCB 187).

The relations between Hg, Pb and OCs concentrations and other variables were tested using partial Pearson correlations. Relationships between fish consumption, Hg, Pb and OC concentrations were tested using multiple regressions with adjustments for age and ecosystem. The stepwise mixed procedure was used to test relationships between THs and potential co-factors such as age, gender, smoking and alcohol consumption, medications, total lipid concentrations. Relationships, stratified by gender, were examined between OCs, Hg, Pb and Se (as independent variables) and THs (as dependent variables), considering the confounding variables retained by the stepwise multiple regression analyses. Because of the high correlation between PCBs congeners, each selected congener and family of congeners were analysed separately in the regression models.

Since hyperlipidemia is a secondary disorder associated with hypothyroidism (Al-Tonsi et al., 2004; Tanis et al., 1996), the relation between, lipids, PCBs and THs may take different forms. Hypothyroidism can lead to hyperlipidemia with a

concomitant increase in serum PCB levels or an increase in lipids can lead to increased PCB concentrations which, in turn, may affect TH levels. Thus, multiple regression analyses were performed with OCs adjusted and unadjusted for lipid concentration to take into account potential TH effects on blood lipid mobilisation. The comparison of adjusted and unadjusted models can indicate whether lipids are an intermediate factor in the inverse link or a confounding factor in the relation.

All statistical analyses were performed using JMP 5.0.1a (SAS Institute Inc., 1999). The criterion for significance was set at  $p < 0.05$ .

## **RESULTS**

### **Population characteristics**

Table 3.2 presents the socio-demographic characteristics for the men and women. Men who were current smokers reported smoking an average of  $20.3 \pm 9.2$  cigarettes/d, while the mean for women was  $16.4 \pm 6.9$  cigarettes/d. Men who drank alcohol reported an average of  $207.5 \pm 194.3$  g/wk and the average reported by women was  $96.7 \pm 96.6$  g/wk. A total of 42 men and 31 women reported using pesticides either in their job (past or present) or in their hobbies, but no one reported occupational exposure to Hg or PCBs.

Tableau 3.2 General characteristics of the study group for men and women

	men (n = 124)	women (n =87)	
	Median (range)	Median (range)	Wilcoxon test p
Age (years)	51.5 (20.0 - 74.0)	47.0 (18.0-70.0)	0.02
Education (years)	12.0 (3.0 - 19.0)	12.0 (5.0-18.0)	0.009
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27.1 (17.4- 42.8)	25.0 (18.1- 46.5)	0.12
Fish consumption			
Freshwater catch (g/d)	26.9 (0.7-385.2)	15.3 (0.3-131.5)	< 0.001
Market (g/d)	17.7 (0.0 -105.1)	18.5 (1.8- 113.9)	0.91
Total (g/d)	48.2 (5.4- 438.4)	34.3 (9.5-198.9)	0.002
	n (%)	n (%)	Chi Sq
Smoking habits			
Smokers	36 (29)	23 (27)	0,71
Non-smokers	88 (71)	63 (73)	
Currently drinks alcohol	103 (85)	62 (72)	0.02
Occupational exposure	61 (50)	30 (34)	0.02
Current exposure to metals	15 (12)	0 (0)	<0.001
Medication			
Glucose regulator	8 (6)	4 (4)	0.76
Cardiovascular diseases	20 (16)	9 (10)	0.02
High blood pressure	29 (23)	10 (12)	0.01

For both men and women, BMI, medication for cardiovascular disorders and high blood pressure, and fish consumption increased with age. No inter-community differences were observed for socio-demographic parameters for either men or women.

Table 3.3 presents serum OC concentrations, unadjusted and adjusted for lipids, and whole blood Hg and Pb, as well as hair Hg concentrations. For PCBs, with the exception of the dioxin-like congeners and PCB 138 and PCB 158, men had higher concentrations compared to women while no differences were observed for

serum *p,p'*-DDE. There were no gender differences for the bioindicators of Hg or blood Se, but men had significantly higher blood Pb. For men and women, serum PCBs, blood total Hg, Pb and hair Hg increased with age.

The relations between fish consumption and bioindicators were examined taking into account age and location. For both men and women, freshwater catch consumption was positively related to blood total Hg (men: partial  $r^2 = 0.04$ ;  $p < 0.001$ ; women: partial  $r^2 = 0.08$ ;  $p = 0.002$ ), blood MeHg (men: partial  $r^2 = 0.05$ ;  $p = 0.006$ ; women: partial  $r^2 = 0.09$ ;  $p = 0.0009$ ), HHg (men: partial  $r^2 = 0.05$ ;  $p = 0.005$ ; women: partial  $r^2 = 0.06$ ;  $p = 0.008$ ). Blood Pb was associated with fish consumption for men (partial  $r^2 = 0.06$ ;  $p = 0.005$ ), but not for women. No relation was observed for any of these bioindicators with respect to market fish. No relations were observed between fish consumption and OCs for either men or women,

Tableau 3.3 Serum concentrations of PCBs, *p*, *p*'-DDE unadjusted and adjusted for lipids, and metals in whole blood and hair for men and women

	men (N=124)				women (N=87)				Wilcoxon test p
	25th	50th	75th	Max	25th	50th	75th	Max	
<b>OCs: ng/L (ng/g lipids)</b>									
PCB 138	1 (0.2)	170 (27)	400 (60)	2180 (287)	1 (0.2)	140 (24)	350 (51)	1560 (289)	0.26
PCB 153	340 (53)	600 (96)	1130 (153)	7070 (1088)	230 (44)	480 (75)	680 (124)	2870 (623)	0.01
PCB 180	1 (0.1)	130 (20)	370 (58)	2700 (415)	1 (0.1)	1 (0.2)	240 (41)	860 (106)	0.02
Non-coplanar	550 (95)	1050 (164)	1690 (249)	10930 (1682)	480 (80)	790 (134)	1110 (180)	2870 (624)	0.002
Mono-orthocoplanar	3 (0.5)	70 (10)	240 (34)	1870 (361)	3 (0.5)	130 (21)	310 (50)	1330 (378)	0.15
Arochlor 1260	2420 (457)	4110 (719)	7200 (1090)	82830 (6589)	2090 (352)	3430 (569)	4720 (840)	14900 (3241)	0.01
Dioxin-like	200 (30)	390 (52)	750 (80)	2810 (265)	160 (23)	400 (57)	660 (82)	1980 (206)	0.48
ΣPCBs	1060 (177)	1710 (269)	2550 (411)	19470 (2995)	960 (166)	1370 (237)	1990 (312)	400 (805)	0.04
<i>p</i> , <i>p</i> '-DDE	0.85 (139)	1.27 (211)	2.552 (387)	7.97 (351)	0.94 (157)	1.52 (240)	3.03 (459)	8.12 (1314)	0.30
<b>Whole blood metals: µg/L</b>									
THg	0.72	2.25	6.02	26.90	0.60	1.50	4.90	15.7	0.22
IHg	0.30	0.40	1.07	3.30	0.30	0.50	0.90	2.80	0.92
MeHg	0.40	1.70	5.10	23.9	0.10	1.30	3.90	13.80	0.17
Pb	24.20	31.0	42.0	209.0	12.30	17.40	26.10	125.0	0.0001
Se	195.0	209.0	225.75	296.0	182.0	202.0	229.0	269	0.19
Cd	0.40	0.50	0.77	2.3	0.40	0.60	0.70	1.60	0.86
Non-smokers	2.53	3.50	5.53	7.7	2.20	3.00	4.80	7.50	0.66
Smokers									
<b>Hair: µg/g</b>									
HHg	0.22	0.59	1.37	8.16	0.15	0.37	1.12	4.96	0.07

Table 3.4 shows TH levels for men and women. Women had significantly higher T4 compared to men. No differences were observed between communities for either men or women and the data from the two communities were combined for further analyses. For both men and women, T4 was positively correlated to T3 (men:  $r = 0.25$ ,  $p = 0.005$ ; women:  $r = 0.30$ ,  $p = 0.004$ ); but no correlation was observed with TSH. For men, a negative correlation was observed between T4 and alcohol intake ( $r = -0.19$ ,  $p = 0.03$ ). THs did not vary with age, BMI or smoking status, for men or women.

To examine the relations between THs and each of the bioindicators of exposure, age and smoking status (yes/no) were introduced as fixed variables in the multiple regression models. Since type 1, 2, and 3 iodothyronine deiodinase are selenoproteins (Kohrle, 2000; Kohrle, 2005), Se was also introduced as a fixed variable. All models were tested with and without total plasma lipid concentration and although no differences were observed, because of its biological significance, total plasma lipid was included as a fixed variable. In addition, for men: reported pesticide exposure was retained for T3 analyses; corticoid medication for T4 and current occupational exposure to metals and alcohol consumption for TSH. For women, oestro-progestative hormone intake was added as a fixed variable for all TH analyses.

Tableau 3.4 Percentile distribution of serum thyroid hormone levels for men and women

THs	men (N=124)					women (N=87)					Wilcoxon test p
	Min	25th	50th	75th	max	Min	25th	50th	75th	Max	
TSH (mIU/l)	0.21	0.71	1.02	1.56	2.97	0.07	0.79	1.05	1.54	2.84	0.56
T4 (ng/ml)	36.16	62.87	74.50	85.52	133.87	52.87	69.12	79.64	94.05	131.33	0.009
T3 (ng/ml)	0.56	0.94	1.07	1.38	2.40	0.52	0.94	1.11	1.42	1.97	0.86



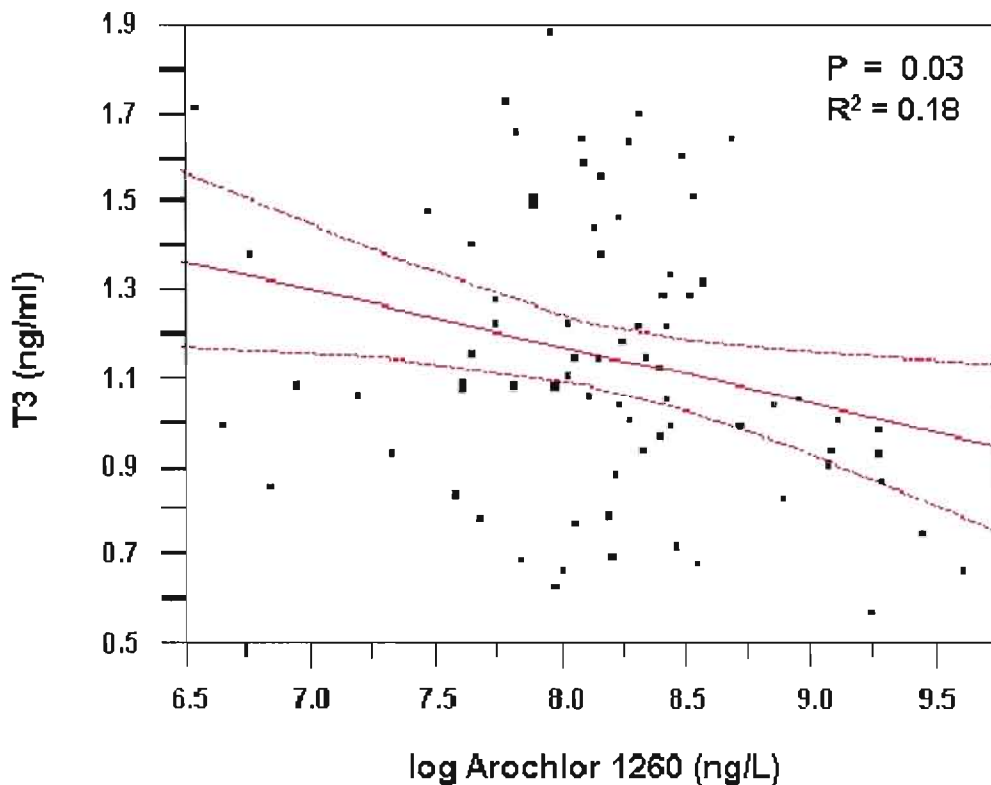
Table 3.5 presents the beta coefficients from the multiple regression analyses for each bioindicator of exposure. For women, serum T3 concentration was negatively related to serum concentrations of PCB 138, PCB 153 the non-coplanar PCB congeners, Arochlor 1260, and  $\Sigma$ PCB, as well as *p,p'*-DDE. Figure 3-1 presents the scatterplot for Arochlor 1260 and serum T3, adjusted for the variables indicated above. An increase in T3 levels was also observed with increasing blood Pb, but this relation was no longer significant when the PCB congeners mentioned above were included one by one in the model. No variations were observed for T4 and any of the bioindicators of exposure. For TSH, a negative relationship was observed only with blood Pb. This relationship remained significant even when PCB congeners were included in the model.

Tableau 3.5 Beta estimates from multiple regression analyses for each bioindicator of exposure for men and women

	T3		T4		TSH	
	men	women	men	women	men	women
<b><u>Serum</u></b>						
PCB 138	0.02	-0.03*	- 2.32*	0.30	0.05*	-0.01
PCB 153	0.02	-0.30*	0.25	-0.17	-0.03	-0.03
PCB 180	0.01	-0.002	-0.28	0.43	0.43*	-0.03
Non-coplanar	0.03	-0.04 *	-1.29	0.93	0.33*	-0.03
Mono-ortho	-0.01	0.02	-0.55	-0.54	0.64*	-0.01
Arochlor 1260	0.08	-0.14*	-3.95	1.54	0.14	-0.05
Dioxine-like	-0.01	-0.01	-2.19*	0.04	0.55**	0.04
$\Sigma$ PCBs	0.09	-0.11 *	- 5.75*	0.03	0.30	-0.05
<i>p,p'</i> -DDE	-0.01	-0.12*	-0.11	-0.85	0.20 <sup>+</sup>	-0.08
<b><u>Whole blood</u></b>						
Total Hg	-0.05	-0.01	-0.98	0.43	0.11*	-0.03
HgI	-0.15	-0.02	-2.62	-1.48	0.34*	-0.03
MeHg	-0.07	-0.003	-0.45	0.89	0.15*	-0.04
Pb	0.12	0.15 <sup>+</sup>	-1.93	-0.36	-0.05	-0.32*
<b><u>Hair</u></b>						
HHg	-0.02	-0.02	0.98	-0.31	0.07 <sup>+</sup>	-0.08

<sup>+</sup> p < 0.1, \*p < 0.05; \*\*p < 0.001. OCs, Hg and lead data were log transformed

Figure 3-1 Scatterplot of serum Arochlor 1260 and T3 for women (T3 values are adjusted for age, smoking status (yes/no), total lipids, hormones medication and blood selenium). The linear regression line and 95% confidence intervals are indicated.



For men, T4 was negatively related to PCB 138,  $\Sigma$ PCB and dioxin-like congeners. A positive relationship was observed between TSH and PCB 180,  $\Sigma$ PCB, non coplanar, mono-*ortho* coplanar and dioxin-like PCBs, as well as blood total, inorganic and methyl Hg and hair Hg. The scatterplot for TSH, adjusted for the variables indicated above, and  $\Sigma$ PCB are presented in Figure 3-2 and Figure 3-3 shows the scatterplot for total blood Hg and TSH.

Figure 3-2 Scatterplot of serum sum PCBs vs TSH for men (adjusted for age, smoking status (yes/no), alcohol consumption (yes/no), current exposure to metals (yes/no), total lipids and blood selenium). The linear regression line and 95% confidence intervals are indicated.

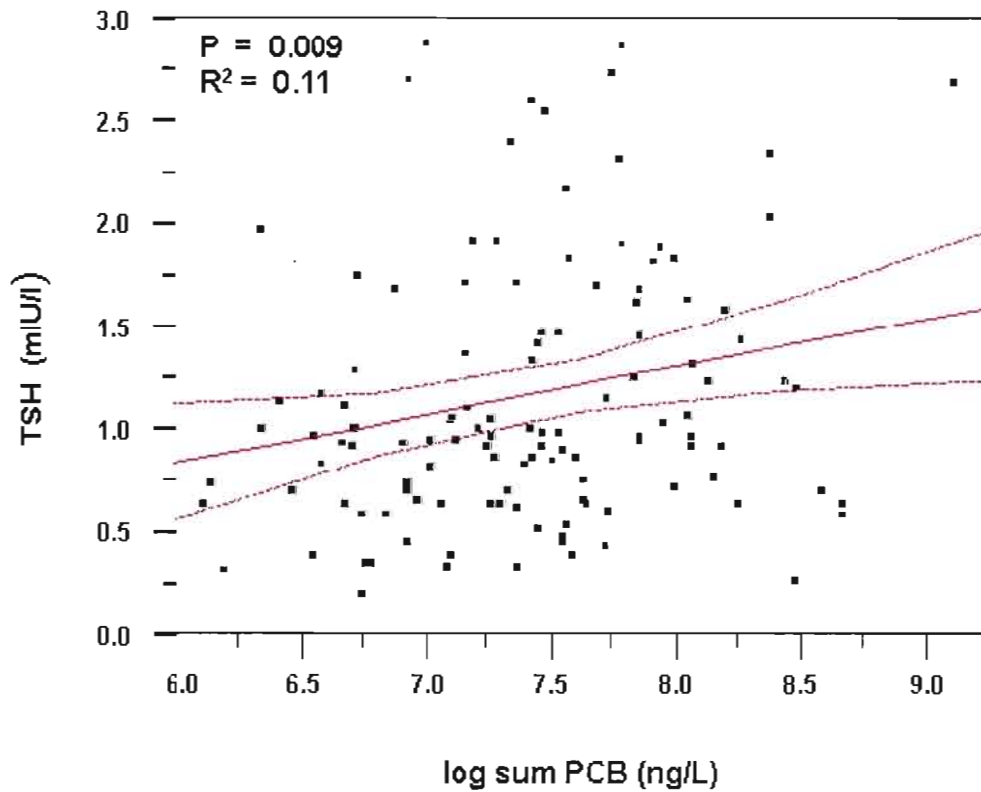
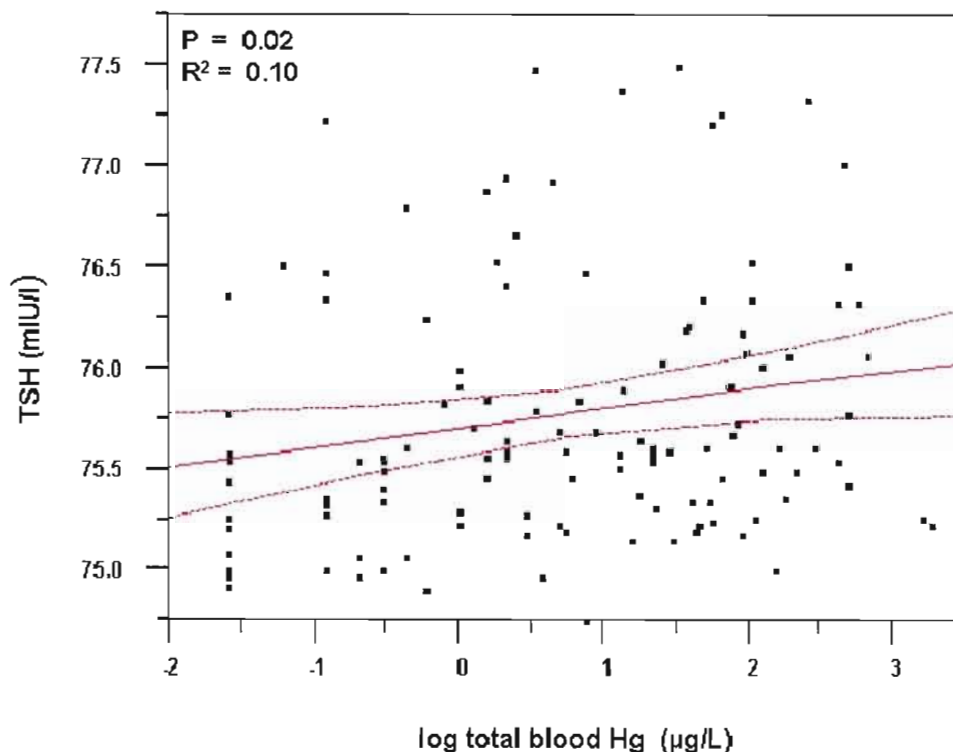


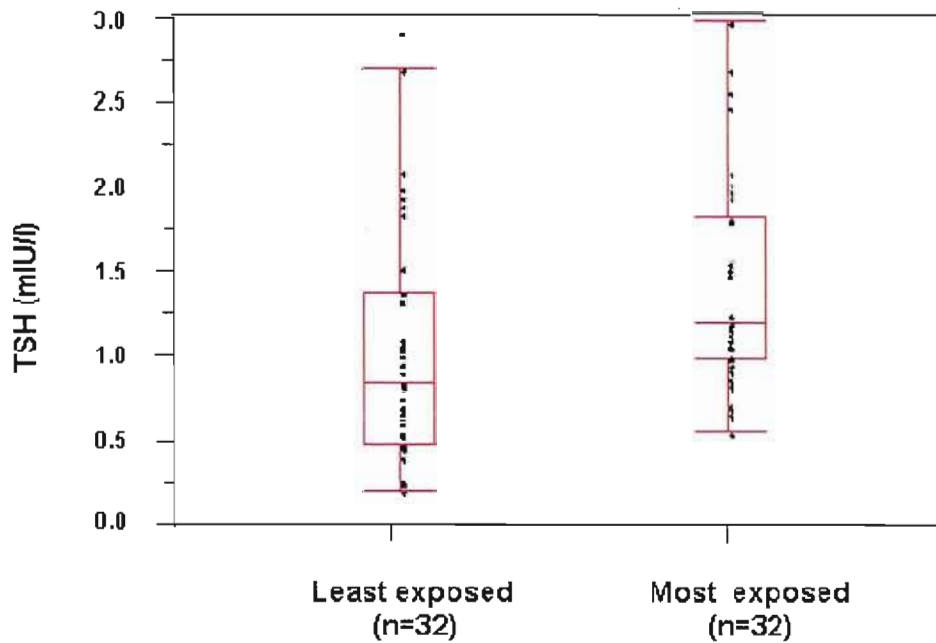
Figure 3-3 Scatterplot of blood total Hg and TSH for men (adjusted for age, smoking status (yes/no), alcohol consumption (yes/no), current exposure to metals (yes/no) and blood selenium). The linear regression line and 95% confidence intervals are indicated.



For both men and women, no difference was observed in the results when zero was used for non-detectable values in the OC summed congener families. Since blood total Hg and several OCs were both related to TSH concentrations, we re-analysed the data for the bioindicators of Hg and OC as independent variables in the model (each bioindicator of Hg was examined separately with each OC). Inclusion of Hg and/or OCs did not change the relation between THs and OCs or between THs and bioindicators of Hg. None of the interaction Hg-OC terms were significant. The interaction between Se and Hg was tested and was not significant.

Since TSH was related to both dioxin-like PCBs and blood total Hg in men, we created 2 exposure categories, the first included persons with both dioxin-like PCBs and total Hg below their medians ( $n = 32$ ) and the second included those with both dioxin-like PCBs and total Hg above their medians ( $n = 32$ ). Figure 3-4 shows the distribution of TSH concentrations, adjusted for the covariables indicated above, for these two groups, the TSH median value was 45.7% higher for the most exposed compared to the least exposed and was significantly different between the two groups (Student's  $t$ :  $p < 0.001$ ).

Figure 3-4 Adjusted TSH levels for the most and the least exposed to both total blood Hg and serum dioxin-like congeners.



Least exposed group: Dioxin-like PCBs and total blood Hg below their medians  
Most exposed group: Dioxin-like PCBs and total blood Hg above their medians

## DISCUSSION

The findings of this study suggest that there may be gender differences in the way in which contaminants affect TH homeostasis. For women, decreased T3 was associated with several PCB congeners, while a decrease in TSH levels was observed with blood Pb. For men, dioxin-like PCB congeners showed the strongest inverse relation with T4 and a positive relation with TSH. TSH also increased significantly in men with all of the bioindicators of Hg and was highest among those with the highest exposures to both Hg and dioxin-like congeners.

The inverse associations between T3 and PCBs in women observed here, are in agreement and lend support to previous studies of THs in women (Hagmar et al., 2001; Koopman-Esseboom et al., 1994; Takser et al., 2005). In schoolchildren living near a hazardous waste incineration plant, Osius et al. (1999) observed a significant decrease of free T3 (fT3) levels in the girls, but not the boys, in relation to various PCB congeners. Like the present study, some studies of women have not observed effects of PCBs on TSH or T4 (Takser et al., 2005; Hagmar et al., 2001), while others have reported changes in T4 and/or TSH. Koopman-Esseboom et al. (1994) reported a decrease in both T3 and T4 in pregnant women of the Dutch child cohort study with increasing sum PCBs. More recently, Turyk et al. (2007), who used the NHANES 1999-2002 data, observed a decrease in T4 and an increase in TSH for women above 60 years of age in relation to PCBs and TEQs, but not for the younger women. In the latter study, T3 was not assessed. In the present study, we did not have sufficient power to stratify for both sex and age.

Early stages of non-thyroidal illness syndrome are characterized by lower T3 levels (Goichot et al., 1998). It has been suggested from animal studies that PCBs may be associated with this syndrome (Toni et al., 2005). In a study of

hypothyroidism in Quebec, based on the use of hormone medication recorded in the National Insurance data bank, Gagnon et al. (2006) noted that the prevalence was much higher among women compared to men. Maternal hormone status may affect foetal growth and neonatal thyroid function (Blazer et al., 2003) as well as children's neurodevelopment (for review: Brower et al, 1999). In humans, 80% of circulating T3, the physiologically active form of TH, is generated from peripheral deiodination of T4 by enzymatic action of 5'-monodeiodinase D1 and D2, and 20% is derived from thyroidal secretion (Pilo et al., 1990). It has been suggested that PCBs may affect deiodinase activities (for review: Brouwer et al., 1998). PCB treatment has been shown to depress liver D1 activity in chick embryo (Gould et al., 1999) and in rats (Visser et al., 1993).

In the present study, the men's most significant profile changes (an increase in TSH and decrease in T4) were observed with the dioxin-like PCB congeners, which include the congeners 105, 118, 128, 138 and 170, and with the sum of the 16 PCB congeners. Experimental studies have shown that dioxins activate the aryl hydrocarbon (Ah) receptor, which induces uridine glucuronosyl transferase and increases the glucuronidation and elimination of T<sub>4</sub> in male and female Sprague-Dawley rats (Schuur et al., 1997; Sewall et al., 1995). For men in the present study, non-coplanar and mono-*ortho* coplanar PCBs were also associated with an increase in TSH. *In vitro* studies have shown that both non-coplanar, mono-*ortho* congeners and hydroxylated PCB metabolites may disrupt TH status, by affecting thyroid hormone receptor (TR)-mediated transcription (Iwasaki et al., 2002). Administration of non-coplanar PCBs to weanling female rats showed that in addition, the hypothalamo-pituitary-thyroid (HPT) axis may be a target for non-coplanar congeners through stimulation of thyrotropin releasing hormone (TRH) (Khan and Hansen, 2003). The profile of TH changes with PCBs in men in the present study was similar to the findings of Schell et al (2004), who likewise reported an increase of TSH and a decrease of T4 with ΣPCB for Mohawk adolescents (see Table 3.1), although these

authors did not stratify for gender. Our results differ from the NHANES data, which showed, for older men (>60 years), a decrease in both T4 and TSH levels with increasing  $\Sigma$ PCB and  $\Sigma$ TEQ (Turyk et al., 2007).

It is noteworthy that women who have been studied were mostly from community based studies (Hagmar et al., 2001; Turyk et al., 2007) and birth cohort studies (Takser et al., 2005; Koopman-Esseboom et al., 1994), while, with the exception of the NHANES based study (Turyk et al., 2007), studies on men have targeted persons from specific situations, such as a fertility clinic (Meeker et al., 2007a) or subsequent to a clinically surveyed diet (Pelletier et al., 2002). In these studies, there may have been underlying hormonal imbalances that could affect thyroid homeostasis (Meeker et al., 2007b; Ortega et al., 2007; Weber et al., 2003). For men who were consulting at an infertility clinic, a decrease of T3 was observed for several congeners, with no effect on T4 and TSH (Meeker et al., 2007), while in a study of obese men, who had just completed a macronutrient-specific energy restricted diet, there were likewise no relations with T4, but inverse relations between T3 and PCB 28, PCB 99, PCB 118, PCB 170, which are not the most prevalent congeners (Pelletier et al., 2002). Other studies of men targeted very high fish consumers with different profiles of fish consumption (Bloom et al., 2003; Hagmar et al., 2001; Rylander et al., 2006; Turyk et al., 2006b). Fishermen from the Great Lakes presented decreases in all THs with the sum of 86 PCB congeners, but results for the individual congeners were not reported (Turyk et al., 2006). Similar to the present study, Hagmar et al. (2001) did not observe any variations in THs with PCB 153, the most prevalent congener, which they used as the sole indicator of PCBs exposure in Swedish fishermen. Safe (1994) has suggested that the potential for thyroid disruption may differ with pattern of chlorine substitution on the biphenyl rings.



Increased TSH and diminished T4, observed with dioxin-like PCBs and  $\Sigma$ PCB in men in the present study, suggests that some OCs may affect the feedback regulatory mechanism by depressing T3 or T4 levels in the hypothalamic–pituitary–thyroid axis (Boas et al., 2006). Physiologically, PCBs and their metabolites affect thyroid hormone (THs) metabolism through (i) up-regulation of hepatic uridinediphosphoglucuronosyl transferase activity, which increases free thyroxine (fT4) metabolism (Van Birgelen et al., 1995; van Raaij et al., 1993b; Zhou et al., 2001), (ii) alteration of deiodinase activities (Gould et al., 1999; Wade et al., 2002), (iii) inhibition of thyroid hormone sulfation (Schoor et al., 1998a; Schoor et al., 1998b), (iv) displacement of THs from the serum binding proteins, thereby allowing increased metabolism of the hormones (Cheek et al., 1999; Meerts et al., 2002), and (v) binding to TH receptors and modulation of transcriptional activity (Miyazaki et al., 2004). Structural and morphological changes with hypoechogenicity and increased thyroid volume have also been reported in relation to PCB exposure (Langer et al., 2005).

For OCPs, women in the present study showed a decrease in T3 with increased serum *p,p'*-DDE; the former is consistent with the findings of Takser et al. (2005) for pregnant women. In men who were high consumers of Great Lakes' fish, Turyk et al. (2006) reported decreases in T3 and T4 with increasing *p,p'*-DDE, while in the study using NHANES data, no relation was observed for *p,p'*-DDE for men, but women showed an increase in T4 and TSH (Turyk et al., 2007). In the present study, TSH showed a tendency to increase with *p,p'*-DDE in men, but not in women. A positive association between *p,p'*-DDE and TSH was reported in middle-aged and elderly men in Sweden (Rylander et al., 2006).

There has been much discussion over the use of adjusting (as a covariate) or standardizing (dividing by lipids levels) serum PCB levels for blood lipids. In assessing health outcomes in relation to lipophilic pollutants, when blood samples

were used to quantify exposure levels, Schisterman et al. (2005) studied four serum lipid models: unadjusted, standardized, adjusted and two-stage. Their results showed that the standardized model resulted in a biased underestimate of the PCB effect on breast cancer. In the present study, lipid adjusted and non-adjusted models were tested and no differences in the degree of associations were noted. Here, blood lipids did not constitute a major confounding factor and were unlikely to be an interfering factor in the observed results.

In the present study, TSH in men was positively associated with Hg exposure, even when taking into account PCBs individually and summed. Few studies have examined the relation between Hg exposure and TH homeostasis. It has been suggested that men's long term workplace exposure to IHg may interfere with thyroid metabolism by reducing T4 deiodination and T3 levels (Ellingsen et al., 2000). Most studies which showed a relation between blood IHg exposure and TH imbalance (Dunbar et al., 2006; Schumacher et al., 1998; Barregard et al., 1994) were carried out on men with occupational exposure. Barregard et al. (1994) reported a higher free T4 levels, fT4/fT3 ratio and a decrease of fT3 levels in the highest exposed group from a chloralkali plant. In Norway, Ellingsen et al. (2000) observed higher reverseT3 (rT3) level and fT4/fT3 ratio in the highest exposed subjects compared with the referents working in cellulose bleaching and lignine drying plant.

The present study is the first to report relations between TSH and blood Pb levels, in women, but not in men, who had higher blood Pb concentrations. Men's occupational exposure to Pb can impair pituitary thyroid axis homeostasis (Dundar et al., 2006; Lopez et al., 2000; Singh et al., 2000). Singh et al. (2000) and Lopez et al. (2000) observed an increase of TSH level in relation to Pb exposure while Dunbar et al. (2006) reported a lower fT4 levels in 42 exposed adolescent without any change in TSH or fT3 levels. In all of these studies not only did the male exposed workers present much higher blood Pb levels than those observed here, but in two of the three

studies even the referent groups were considerably higher. The possible relation between low level Pb exposure and TH homeostasis needs to be further investigated for both women and men.

In the present study, PCB levels were similar to those reported in a pilot study of sports fishers in Quebec (Ayotte et al., 2005; Kosatsky et al., 1999), but above those for the general United States (U.S.) population above 20y of age, reported in the U.S. National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals (CDC., 2005). As a point of comparison, the 50<sup>th</sup> percentile of PCB 153 in the present study corresponds to the 90<sup>th</sup> percentile of the U.S report. However, serum *p,p'*-DDE concentrations were lower than those observed in the Quebec sports fisher study. With respect to the U.S. population (CDC, 2005), serum *p,p'*-DDE median values were similar, while the upper 75<sup>th</sup> percentile was lower for the group assessed here. Although several authors have reported significant associations between fish consumption and various OCs (Turyk et al., 2006; Persky et al., 2001; Kosatsky et al., 1999), this was not the case for the present study. It should be noted that during the recent decades, freshwater fish PCB concentrations have shown a significant decrease in many Canadian lakes and rivers (Franck et al., 1991). A recent report on Canadian market fish showed that PCB levels were below the guideline for PCBs (2000 ng/g) in fish and fish products (Rawn et al., 2006). OC concentrations may reflect previous exposure through fish consumption, other dietary (Huwe and Larsen, 2005; O'Keefe et al., 2006; Weiss et al., 2005) or environmental sources (MacLeod et al., 2007).

In the present study, bioindicators of Hg were higher than those reported by others (Kosatsky et al., 2000; Mahaffey and Mergler, 1998), for persons eating fish from the St. Lawrence River, but lower than their reported blood Pb levels (Kosatsky et al., 2000; Kosatsky et al., 2001; Mergler et al., 1998). Similar to these previous studies, Hg and Pb were related to fish consumption.

There are several limitations to the present study. We did not analyze rT3, fT3, fT4 and thyroid antibodies, which would have been useful in explaining the results and hypothesized possible mechanisms. The presence of thyroid antibodies in serum may also affect TH homeostasis and more specifically TSH levels (Jensen et al., 2006). Furthermore, thyroid status can be influenced by environmental contaminants that were not assessed in the present study, such as arsenic and the metabolite of hexachlorobenzene (pentachlorophenol) and hydroxyl PCBs (OH-PCBs), which can disturb thyroidogenesis due to their high degree of structural similarity to T4 (van Raaij et al., 1993a). TH homeostasis can also be influenced by iodine intake and bioavailability (Zimmermann et al., 2005).

Finally, the findings of this study were based on a convenience sample of fresh-water local fish consumers. Because a convenience sample is based on voluntary participation and may not fully represent the population from which the sample was recruited, it may introduce a bias. However, in other studies, convenience samples have been shown to appropriately represent the underlying population (Kelly et al., 2002; Sousa et al., 2004). Although there was sufficient statistical power to observe effects, a higher number of men and women would be more conclusive.

Although a growing number of studies show that environmental contaminants affect TH levels, there is still much inconsistency in the findings, possibly due to different exposure profiles and other factors that may modulate TH secretion. However, the results of the present study support the concerns expressed recently by members of the Scientific Group on Methodologies for the Safety Evaluation of Chemicals (Gochfeld., 2007b) who put forward that men and women may not respond in a similar fashion to environmental pollutants because of toxicokinetic and hormonal differences which can influence and modify observed outcomes (Gochfeld, 2007a; Vahter et al., 2006). Future studies on THs should heed the advice of Gochfeld (2007a) who points out that sex represents a basic biologic variable, not a

confounder and, unless there is clear evidence of similar responses, women and men should be analysed separately.

## **FUNDING SOURCES**

This study is a part of the Canadian project "Collaborative Mercury Research Network" (COMERN) funded by Natural Science and Engineering Research Council (NSERC) of Canada. N.Abdelouahab was financially supported by COMERN and the FRSQ Graduate Student Scholarship.

The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Université du Québec à Montréal and an informed consent form was signed by each participant.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

We gratefully acknowledge the support of the Lake St-Pierre Fisher Association and the communities of Lake St-Pierre and Abibiti. We would like to thank Donna Legee for her aid in laboratory analysis and Marie-Ève Thibault for her administrative support. This study was supported by the Collaborative Mercury Research Network (COMERN) with funds from the Natural Science and Engineering Research Council (NSERC) of Canada.

**ABBREVIATIONS**

BMI: body mass index  
Cd: cadmium  
*p,p'*-DDE: *p,p'*-diphenyldichloroethene  
FFQ: Food Frequency Questionnaire  
fT3: free triiodothyronine  
fT4: free thyroxine  
Hg: mercury  
IHg: inorganic Hg  
HHg: hair mercury  
THg: total mercury  
ICP-MS: Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry  
LOD: limit of detection  
LSP: Lake St-Pierre  
MeHg: methylmercury  
OCs: organochlorines  
OCPs: organochlorine pesticides  
*PCBs*: polychlorinated biphenyls  
Pb: lead  
rT3: reverse triiodothyronine  
Se: selenium  
SD: standard deviation  
THs: thyroid hormones  
TSH: thyroid stimulating hormone  
T4: thyroxine  
T3: triiodothyronine

**REFERENCES**

- Al-Tonsi, A., A., Abdel-Gayoum, A., A., Saad, M., 2004. The secondary dyslipidemia and deranged serum phosphate concentration in thyroid disorders. *Exp Mol Pathol.* 76, 182-7.
- Allain, C. C., Poon, L. S., Chan, C. S., Richmond, W., Fu, P. C., 1974. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem.* 20, 470-5.
- Ayotte, P., Dewailly, E., Lambert, H., G., Perkins, L., S., Poon, R., Feeley, M., Larochelle, C., Pereg, D., 2005. Biomarker measurements in a coastal fish-eating population environmentally exposed to organochlorines. *Environ Health Perspect.* 113, 1318-24.
- Barregard, L., Lindstedt, G., Schutz, A., Sallsten, G., 1994. Endocrine function in mercury exposed chloralkali workers. *Occup Environ Med.* 51, 536-40.
- Beard, J., 2006. DDT and human health. *Sci Total Environ.* 355, 78-89.
- Blazer, S., Moreh-Waterman, Y., Miller-Lotan, R., Tamir, A., Hochberg, Z., 2003. Maternal hypothyroidism may affect fetal growth and neonatal thyroid function. *Obstet Gynecol.* 102, 232-41.
- Bloom, S., M., Weiner, M., J., Vena, E., J., Beehler, P., G., 2003. Exploring associations between serum levels of select organochlorines and thyroxine in a sample of New York state sportsmen: the New York State Angler Cohort Study. *Environ Res.* 93, 52-66.
- Bloom, N., Fitzgerald, W.F., 1988. Determination of volatile mercury species at the picogram level by low temperature gas chromatography with cold vapor atomic fluorescence detection. *Analytica Chemica Acta* 208, 151-61
- Boas, M., Feldt-Rasmussen, U., Skakkebaek, E., N., Main, M., K., 2006. Environmental chemicals and thyroid function. *Eur J Endocrinol.* 154, 599-611.
- Brouwer, A., Longnecker, P., M., Birnbaum, S., L., Cogliano, J., Kostyniak, P., Moore, J., Schantz, S., Winneke, G., 1999. Characterization of potential endocrine-related health effects at low-dose levels of exposure to PCBs. *Environ Health Perspect.* 107 Suppl 4, 639-49.
- Brouwer, A., Morse, C., D., Lans, C., M., Schuur, G., A., Murk, J., A., Klasson-Wehler, E., Bergman, A., Visser, J., T., 1998. Interactions of persistent



- environmental organohalogenes with the thyroid hormone system: mechanisms and possible consequences for animal and human health. *Toxicol Ind Health*. 14, 59-84.
- Cheek, A. O., Kow, K., Chen, J., McLachlan, J. A., 1999. Potential mechanisms of thyroid disruption in humans: interaction of organochlorine compounds with thyroid receptor, transthyretin, and thyroid-binding globulin. *Environ Health Perspect*. 107, 273-8.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2005. Third National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. Atlanta (GA). Available: [http:// www.cdc.gov /exposurereport/report.htm](http://www.cdc.gov/exposurereport/report.htm)
- Covaci, A., Schepens, P., 2001. Simplified method for determination of organochlorine pollutants in human serum by solid-phase disk extraction and gas chromatography. *Chemosphere*. 43, 439-47.
- Dundar, B., Oktem, F., Arslan, K., M., Delibas, N., Baykal, B., Arslan, C., Gultepe, M., Ilhan, E., I., 2006. The effect of long-term low-dose lead exposure on thyroid function in adolescents. *Environ Res*. 101, 140-5.
- Ellingsen, G., D., Efskind, J., Haug, E., Thomassen, Y., Martinsen, I., Gaarder, I., P., 2000. Effects of low mercury vapour exposure on the thyroid function in chloralkali workers. *J Appl Toxicol*. 20, 483-9.
- Erfurth, M., E., Gerhardsson, L., Nilsson, A., Rylander, L., Schutz, A., Skerfving, S., Borjesson, J., 2001. Effects of lead on the endocrine system in lead smelter workers. *Arch Environ Health*. 56, 449-55.
- Fitzgerald, F., E., Hwang, A., S., Langguth, K., Cayo, M., Yang, Z., B., Bush, B., Worswick, P., Lauzon, T., 2004. Fish consumption and other environmental exposures and their associations with serum PCB concentrations among Mohawk women at Akwesasne. *Environ Res*. 94, 160-70.
- Forest, J., C., Masse, J., Lane, A., 1998. Evaluation of the analytical performance of the Boehringer Mannheim Elecsys 2010 immunoanalyzer. *Clin Biochem* 31, 81-88.
- Frank, R., Logan, L., Clegg, B., S., 1991. Pesticide and polychlorinated biphenyl residues in waters at the mouth of the Grand, Saugeen, and Thames Rivers, Ontario, Canada, 1986-1990. *Arch Environ Contam Toxicol* 21(4):585-595.

- Gagnon, F., Langlois, F., M., Michaud, I., Gingras, S., Duchesne, F., J., Levesque, B., 2006. Spatio-temporal distribution of hypothyroidism in Quebec. *Chronic Dis Can.* 27, 1-8.
- Gennart, P., J., Bernard, A., Lauwerys, R., 1992. Assessment of thyroid, testes, kidney and autonomic nervous system function in lead-exposed workers. *Int Arch Occup Environ Health.* 64, 49-57.
- Gill, S., U., Schwartz, M., H., Bigras, L., 2002. Results of multiyear international interlaboratory comparison program for mercury in human hair. *Arch Environ Contam Toxicol.* 43, 466-72.
- Glinioer, D., 1999. What happens to the normal thyroid during pregnancy? *Thyroid.* 9, 631-5.
- Gochfeld, M., 2007a. Gender in toxicology and risk assessment. *Environ Res.* 104(1), 1
- Gochfeld, M., 2007b. Framework for gender differences in human and animal toxicology. *Environ Res* 104(1), 4-21.
- Goichot, B., Sapin, R., Schlienger, L., J., 1998. [Euthyroid sick syndrome: recent physiopathologic findings]. *Rev Med Interne.* 19, 640-8.
- Gould, C., J., Cooper, R., K., Scanes, G., C., 1999a. Effects of polychlorinated biphenyls on thyroid hormones and liver type I monodeiodinase in the chick embryo. *Ecotoxicol Environ Saf.* 43, 195-203.
- Gould, J. C., Cooper, K. R., Scanes, C. G., 1999b. Effects of polychlorinated biphenyls on thyroid hormones and liver type I monodeiodinase in the chick embryo. *Ecotoxicol Environ Saf.* 43, 195-203.
- Hagmar, L., Bjork, J., Sjodin, A., Bergman, A., Erfurth, M., E., 2001. Plasma levels of persistent organohalogenes and hormone levels in adult male humans. *Arch Environ Health.* 56, 138-43.
- Hovander, L., Linderholm, L., Athanasiadou, M., Athanassiadis, I., Bignert, A., Fangstrom, B., Kocan, A., Petrik, J., Trnovec, T., Bergman, A., 2006. Levels of PCBs and their metabolites in the serum of residents of a highly contaminated area in eastern Slovakia. *Environ Sci Technol.* 40, 3696-703.

- Huwe, K., J., Larsen, L., G., 2005. Polychlorinated dioxins, furans, and biphenyls, and polybrominated diphenyl ethers in a U.S. meat market basket and estimates of dietary intake. *Environ Sci Technol.* 39, 5606-11.
- Iwasaki, T., Miyazaki, W., Takeshita, A., Kuroda, Y., Koibuchi, N., 2002. Polychlorinated biphenyls suppress thyroid hormone-induced transactivation. *Biochem Biophys Res Commun.* 299, 384-8.
- Jensen, A., E., Petersen, H., P., Blaabjerg, O., Hansen, S., P., Brix, H., T., Hegedus, L., 2006. Establishment of reference distributions and decision values for thyroid antibodies against thyroid peroxidase (TPOAb), thyroglobulin (TgAb) and the thyrotropin receptor (TRAb). *Clin Chem Lab Med.* 44, 991-8.
- Kabuto, M., 1986. Acute endocrine effects of a single administration of methylmercury chloride (MMC) in rats. *Endocrinol Jpn.* 33, 683-90.
- Kelly, H., Riddell, A., M., Gidding, F., H., Nolan, T., Gilbert, L., G., 2002. A random cluster survey and a convenience sample give comparable estimates of immunity to vaccine preventable diseases in children of school age in Victoria, Australia. *Vaccine.* 20, 3130-6.
- Khan, A., M., Hansen, G., L., 2003. Ortho-substituted polychlorinated biphenyl (PCB) congeners (95 or 101) decrease pituitary response to thyrotropin releasing hormone. *Toxicol Lett.* 144, 173-82.
- Kohrle, J., 2000. The deiodinase family: selenoenzymes regulating thyroid hormone availability and action. *Cell Mol Life Sci.* 57, 1853-63.
- Kohrle, J., 2005. Selenium and the control of thyroid hormone metabolism. *Thyroid.* 15, 841-53.
- Koopman-Esseboom, C., Morse, C., D., Weisglas-Kuperus, N., Lutkeschipholt, J., I., Paauw, V. d., G., C., Tuinstra, G., L., Brouwer, A., Sauer, J., P., 1994. Effects of dioxins and polychlorinated biphenyls on thyroid hormone status of pregnant women and their infants. *Pediatr Res.* 36, 468-73.
- Kosatsky, T., Przybysz, R., Armstrong, B., 2000. Mercury exposure in Montrealers who eat St. Lawrence River sportfish. *Environ Res.* 84, 36-43.
- Kosatsky, T., Przybysz, R., Shatenstein, B., Weber, P., J., Armstrong, B., 1999. Fish consumption and contaminant exposure among Montreal-area sportfishers: pilot study. *Environ Res.* 80, S150-S158.

- Kosatsky, T., Przybysz, R., Weber, P., J., Kearney, J., 2001. Puzzling elevation of blood lead levels among consumers of freshwater sportfish. *Arch Environ Health*. 56, 111-6.
- Langer, P., Kocan, A., Tajtakova, M., Petrik, J., Chovancova, J., Drobna, B., Jursa, S., Pavuk, M., Trnovec, T., Sebkova, E., Klimes, I., 2005. Human thyroid in the population exposed to high environmental pollution by organochlorinated pollutants for several decades. *Endocr Regul*. 39, 13-20.
- Lazarus, J. H., Kokandi, A., 2000. Thyroid disease in relation to pregnancy: a decade of change. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 53, 265-78.
- Legrand, M., Arp, P., Ritchie, C., Chan, M., H., 2005. Mercury exposure in two coastal communities of the Bay of Fundy, Canada. *Environ Res*. 98, 14-21.
- Lopez, M., C., Pineiro, E., A., Nunez, N., Avagnina, M., A., Villaamil, C., E., Roses, E., O., 2000. Thyroid hormone changes in males exposed to lead in the Buenos Aires area (Argentina). *Pharmacol Res*. 42, 599-602.
- MacLeod, M., Scheringer, M., Pody, H., Jones, C., K., Hungerbuhler, K., 2007. The origin and significance of short-term variability of semivolatile contaminants in air. *Environ Sci Technol*. 41, 3249-53.
- Mahaffey, R., K., Mergler, D., 1998. Blood levels of total and organic mercury in residents of the upper St. Lawrence River basin, Quebec: association with age, gender, and fish consumption. *Environ Res*. 77, 104-14.
- Meeker, D., J., Altshul, L., Hauser, R., 2007a. Serum PCBs, p,p'(')-DDE and HCB predict thyroid hormone levels in men. *Environ Res*. 104, 296-304.
- Meeker, D., J., Godfrey-Bailey, L., Hauser, R., 2007b. Relationships between serum hormone levels and semen quality among men from an infertility clinic. *J Androl*. 28, 397-406.
- Meerts, I. A., Assink, Y., Cenijn, P. H., Van Den Berg, J. H., Weijers, B. M., Bergman, A., Koeman, J. H., Brouwer, A., 2002. Placental transfer of a hydroxylated polychlorinated biphenyl and effects on fetal and maternal thyroid hormone homeostasis in the rat. *Toxicol Sci*. 68, 361-71.
- Mergler, D., Anderson, A., H., Chan, H., L., Mahaffey, R., K., Murray, M., Sakamoto, M., Stern, H., A., 2007. Methylmercury exposure and health effects in humans: a worldwide concern. *Ambio*. 36, 3-11.

- Mergler, D., Belanger, S., Larribe, F., Panisset, M., Bowler, R., Baldwin, M., Lebel, J., Hudnell, K., 1998. Preliminary evidence of neurotoxicity associated with eating fish from the Upper St. Lawrence River Lakes. *Neurotoxicology*. 19, 691-702.
- Miyazaki, W., Iwasaki, T., Takeshita, A., Kuroda, Y., Koibuchi, N., 2004. Polychlorinated biphenyls suppress thyroid hormone receptor-mediated transcription through a novel mechanism. *J Biol Chem*. 279, 18195-202.
- Mori, K., Yoshida, K., Hoshikawa, S., Ito, S., Yoshida, M., Satoh, M., Watanabe, C., 2006a. Effects of perinatal exposure to low doses of cadmium or methylmercury on thyroid hormone metabolism in metallothionein-deficient mouse neonates. *Toxicology*. 228, 77-84.
- Mori, K., Yoshida, K., Tani, J., Hoshikawa, S., Ito, S., Watanabe, C., 2006b. Methylmercury inhibits type II 5'-deiodinase activity in NB41A3 neuroblastoma cells. *Toxicol Lett*. 161, 96-101.
- O'Keefe, W., P., Clayton, C., W., Connor, S., Bush, B., Hong, S., C., 2006. Organic pollutants in wild ducks from New York state: I. Interspecies differences in concentrations and congener profiles of PCBs and PCDDs/PCDFs. *Sci Total Environ*. 361, 111-23.
- Ortega, E., Pannacciulli, N., Bogardus, C., Krakoff, J., 2007. Plasma concentrations of free triiodothyronine predict weight change in euthyroid persons. *Am J Clin Nutr*. 85, 440-5.
- Osius, N., Karmaus, W., Kruse, H., Witten, J., 1999. Exposure to polychlorinated biphenyls and levels of thyroid hormones in children. *Environ Health Perspect*. 107, 843-9.
- Pelletier, C., Doucet, E., Imbeault, P., Tremblay, A., 2002. Associations between weight loss-induced changes in plasma organochlorine concentrations, serum T(3) concentration, and resting metabolic rate. *Toxicol Sci*. 67, 46-51
- Persky, V., Turyk, M., Anderson, A., H., Hanrahan, P., L., Falk, C., Steenport, N., D., Chatterton, R., Jr., Freels, S., 2001. The effects of PCB exposure and fish consumption on endogenous hormones. *Environ Health Perspect*. 109, 1275-83.
- Phillips, D. L., Pirkle, J. L., Burse, V. W., Bernert, J. T., Jr., Henderson, L. O., Needham, L. L., 1989. Chlorinated hydrocarbon levels in human serum: effects of fasting and feeding. *Arch Environ Contam Toxicol*. 18, 495-500.

- Pilo, A., Iervasi, G., Vitek, F., Ferdeghini, M., Cazzuola, F., Bianchi, R., 1990. Thyroidal and peripheral production of 3,5,3'-triiodothyronine in humans by multicompartmental analysis. *Am J Physiol.* 258, E715-26.
- Programme des Nations Unis pour l'environnement. 2001. Convention de Stockholm sur les Polluants Organiques Persistants.  
[http://www.pops.int/documents/convtext/convtext\\_fr.pdf](http://www.pops.int/documents/convtext/convtext_fr.pdf)
- Raaij, v., A., J., Frijters, M., C., Berg, v. d., J., K., 1993. Hexachlorobenzene-induced hypothyroidism. Involvement of different mechanisms by parent compound and metabolite. *Biochem Pharmacol.* 46, 1385-91.
- Rawn, F., D., Forsyth, S., D., Ryan, J., J., Breakell, K., Verigin, V., Nicolidakis, H., Hayward, S., Laffey, P., Conacher, B., H., 2006. PCB, PCDD and PCDF residues in fin and non-fin fish products from the Canadian retail market 2002. *Sci Total Environ.* 359, 101-10.
- Ruder, M., A., Hein, J., M., Nilsen, N., Waters, A., M., Laber, P., Davis-King, K., Prince, M., M., Whelan, E., 2006. Mortality among workers exposed to polychlorinated biphenyls (PCBs) in an electrical capacitor manufacturing plant in Indiana: an update. *Environ Health Perspect.* 114, 18-23.
- Rylander, L., Wallin, E., Jonsson, A., B., Stridsberg, M., Erfurth, M., E., Hagmar, L., 2006. Associations between CB-153 and p,p'-DDE and hormone levels in serum in middle-aged and elderly men. *Chemosphere.* 65, 375-81.
- Safe, H., S., 1994. Polychlorinated biphenyls (PCBs): environmental impact, biochemical and toxic responses, and implications for risk assessment. *Crit Rev Toxicol.* 24, 87-149.
- SAS Institute Inc., 1999. SAS/STAT User's Guide, version 8. Cary, NC.
- Schell, M., L., Gallo, M., V., DeCaprio, A., P., Hubicki, L., Denham, M., Ravenscroft, J., 2004. Thyroid function in relation to burden of PCBs, p,p'-DDE, HCB, mirex and lead among Akwesasne Mohawk youth: a preliminary study. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 91-99
- Schisterman, F., E., Whitcomb, W., B., Louis, M., G., Louis, A., T., 2005. Lipid adjustment in the analysis of environmental contaminants and human health risks. *Environ Health Perspect.* 113, 853-7.
- Schumacher, C., Brodtkin, A., C., Alexander, B., Cullen, M., Rainey, M., P., Netten, v., C., Faustman, E., Checkoway, H., 1998. Thyroid function in lead smelter

- workers: absence of subacute or cumulative effects with moderate lead burdens. *Int Arch Occup Environ Health*. 71, 453-8.
- Schuur, G., A., Boekhorst, M., F., Brouwer, A., Visser, J., T., 1997. Extrathyroidal effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on thyroid hormone turnover in male Sprague-Dawley rats. *Endocrinology*. 138, 3727-34.
- Schuur, A. G., Legger, F. F., van Meeteren, M. E., Moonen, M. J., van Leeuwen-Bol, I., Bergman, A., Visser, T. J., Brouwer, A., 1998a. In vitro inhibition of thyroid hormone sulfation by hydroxylated metabolites of halogenated aromatic hydrocarbons. *Chem Res Toxicol*. 11, 1075-81.
- Schuur, A. G., van Leeuwen-Bol, I., Jong, W. M., Bergman, A., Coughtrie, M. W., Brouwer, A., Visser, T. J., 1998b. In vitro inhibition of thyroid hormone sulfation by polychlorobiphenyls: isozyme specificity and inhibition kinetics. *Toxicol Sci*. 45, 188-94.
- Sewall, H., C., Flagler, N., Heuvel, V., P., J., Clark, C., G., Tritscher, M., A., Maronpot, M., R., Lucier, W., G., 1995. Alterations in thyroid function in female Sprague-Dawley rats following chronic treatment with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Toxicol Appl Pharmacol*. 132, 237-44.
- Singh, B., Chandran, V., Bandhu, K., H., Mittal, R., B., Bhattacharya, A., Jindal, K., S., Varma, S., 2000. Impact of lead exposure on pituitary-thyroid axis in humans. *Biometals*. 13, 187-92.
- Sousa, D., V., Zauszniewski, A., J., Musil, M., C., 2004. How to determine whether a convenience sample represents the population. *Appl Nurs Res*. 17, 130-3.
- Steenland, K., Hein, J., M., Cassinelli, T., R., 2nd, Prince, M., M., Nilsen, B., N., Whelan, A., E., Waters, A., M., Ruder, M., A., Schnorr, M., T., 2006. Polychlorinated biphenyls and neurodegenerative disease mortality in an occupational cohort. *Epidemiology*. 17, 8-13.
- Stuetz, W., 2006. Global surveillance of DDT and DDE levels in human tissues. *Int J Occup Med Environ Health*. 19, 83.
- Takser, L., Mergler, D., Baldwin, M., Grosbois, d., S., Smargiassi, A., Lafond, J., 2005. Thyroid hormones in pregnancy in relation to environmental exposure to organochlorine compounds and mercury. *Environ Health Perspect*. 113, 1039-45.

- Tanis, C., B., Westendorp, J., G., Smelt, M., H., 1996. Effect of thyroid substitution on hypercholesterolaemia in patients with subclinical hypothyroidism: a reanalysis of intervention studies. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 44, 643-9.
- Toni, R., Casa, D., C., Castorina, S., Cocchi, D., Celotti, F., 2005. Effects of hypothyroidism and endocrine disruptor-dependent non-thyroidal illness syndrome on the GnRH-gonadotroph axis of the adult male rat. *J Endocrinol Invest*. 28, 20-7.
- Turyk, E., M., Anderson, A., H., Freels, S., Chatterton, R., Jr., Needham, L., L., Patterson, G., D., Jr., Steenport, N., D., Knobeloch, L., Imm, P., Persky, W., V., 2006a. Associations of organochlorines with endogenous hormones in male great lakes fish consumers and nonconsumers. *Environ Res*.
- Turyk, E., M., Anderson, A., H., Persky, W., V., 2007. Relationships of thyroid hormones with polychlorinated biphenyls, dioxins, furans, and DDE in adults. *Environ Health Perspect*. 115, 1197-203.
- Turyk, M., Anderson, A., H., Hanrahan, P., L., Falk, C., Steenport, N., D., Needham, L., L., Patterson, G., D., Jr., Freels, S., Persky, V., 2006b. Relationship of serum levels of individual PCB, dioxin, and furan congeners and DDE with Great Lakes sport-caught fish consumption. *Environ Res*. 100, 173-83.
- Vahter, M., Berglund, M., Akesson, A., Liden, C., 2002. Metals and women's health. *Environ Res*. 88, 145-55.
- Vahter, M., Gochfeld, M., Casati, B., Thiruchelvam, M., Falk-Filippson, A., Kavlock, R., Marafante, E., Cory-Slechta, D., 2006. Implications of gender differences for human health risk assessment and toxicology. *Environ Res*.
- Van Birgelen, A. P., Smit, E. A., Kampen, I. M., Groeneveld, C. N., Fase, K. M., Van der Kolk, J., Poiger, H., Van den Berg, M., Koeman, J. H., Brouwer, A., 1995. Subchronic effects of 2,3,7,8-TCDD or PCBs on thyroid hormone metabolism: use in risk assessment. *Eur J Pharmacol*. 293, 77-85.
- van Raaij, J. A., Kaptein, E., Visser, T. J., van den Berg, K. J., 1993. Increased glucuronidation of thyroid hormone in hexachlorobenzene-treated rats. *Biochem Pharmacol*. 45, 627-31.
- Visser, J., T., Kaptein, E., Toor, v., H., Raaij, v., A., J., Berg, v. d., J., K., Joe, T., C., Engelen, v., G., J., Brouwer, A., 1993. Glucuronidation of thyroid hormone in rat liver: effects of in vivo treatment with microsomal enzyme inducers and in vitro assay conditions. *Endocrinology*. 133, 2177-86.



- Wade, M. G., Parent, S., Finnson, K. W., Foster, W., Younglai, E., McMahon, A., Cyr, D. G., Hughes, C., 2002. Thyroid toxicity due to subchronic exposure to a complex mixture of 16 organochlorines, lead, and cadmium. *Toxicol Sci.* 67, 207-18.
- Weber, G., Vigone, C., M., Stroppa, L., Chiumello, G., 2003. Thyroid function and puberty. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 16 Suppl 2, 253-7.
- Weiss, J., Papke, O., Bergman, A., 2005. A worldwide survey of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans, and related contaminants in butter. *Ambio.* 34, 589-97.
- Zhou, T., Ross, D. G., DeVito, M. J., Crofton, K. M., 2001. Effects of short-term in vivo exposure to polybrominated diphenyl ethers on thyroid hormones and hepatic enzyme activities in weanling rats. *Toxicol Sci.* 61, 76-82.
- Zimmermann, M. B., Aeberli, I., Torresani, T., Burgi, H., 2005. Increasing the iodine concentration in the Swiss iodized salt program markedly improved iodine status in pregnant women and children: a 5-y prospective national study. *Am J Clin Nutr.* 82, 388-92.

## **CHAPITRE IV**

# **ORGANOCHLORINE AND MERCURY EXPOSURE AND NEUROBEHAVIORAL PERFORMANCE AMONG FISH CONSUMERS**

Nadia Abdelouahab ; Bowler Rosemarie, Donna Mergler

Cet article est à soumettre à la revue Neurotoxicology

## RÉSUMÉ

**INTRODUCTION:** La consommation de poisson est une source d'exposition aux polluants neurotoxiques tels que les BPC, le *p-p'* DDE et le mercure (Hg). La neurotoxicité des BPC et du Hg est largement étudiée chez les enfants alors que les effets neurologiques d'une exposition chronique à de faibles doses sont moins bien connus chez les adultes. **OBJECTIFS:** (1) Analyser la relation entre les niveaux des BPC, du *p-p'* DDE, du Hg et les scores de tests neuropsychomoteurs chez un groupe de consommateurs de poisson (2) étudier les interactions entre ces polluants. **MÉTHODE:** Un total de 221 consommateurs de poisson (117 hommes et 104 femmes) âgés entre 18 et 74 ans ont été recrutés dans deux communautés au Canada. Des questionnaires leurs ont été administrés et des dosages sanguins de 16 congénères de BPC, du *p,p'*-DDE, du mercure total et des acides gras sériques EPA et DHA ont été réalisés. Les BPC dioxines-like et l'Arochlor 1260 ont été calculés. Des prélèvements de cheveux ont été faits pour le dosage du Hg total. Le groupe a été stratifié par sexe et ensuite selon l'âge médian (50 ans) en deux groupes âgés entre 18 et 49 ans pour le groupe des plus jeunes et entre 50 et 74 ans pour les plus âgés. Des analyses de régressions multiples entre les biomarqueurs d'exposition et les scores des tests neuropsychomoteurs ont été faites en contrôlant les potentiels cofacteurs. **RÉSULTATS:** L'ensemble des biomarqueurs d'exposition augmentaient avec l'âge et étaient plus élevés chez le groupe des plus âgés. Aucun effet n'a été observé selon le genre. Pour le groupe des plus jeunes, aucune relation significative n'a été observée entre les biomarqueurs d'exposition et les scores des tests neuropsychomoteurs. Pour le groupe des personnes âgées, les BPC, mais pas les biomarqueurs du Hg, étaient associés à de faibles scores des tests neurocognitifs incluant la flexibilité cognitive, la vitesse d'acquisition de l'information, la mémoire active, l'attention et la concentration, la mémoire visuo-spatiale et la vitesse visuo-motrice. Aucune relation n'a été notée entre les BPC et les tests moteurs alors que pour les tests sensoriels, les concentrations sériques des BPC dioxine-like étaient significativement associées à une baisse de la sensibilité sous les lèvres. Les biomarqueurs d'exposition du Hg n'ont montré aucune relation avec les scores des tests cognitifs et sensoriels mais, étaient associés à de meilleures performances dans de nombreux tests moteurs. Ceci incluait, la dextérité manuelle, la vitesse motrice et la coordination. Aucune interaction n'a été observée entre le Hg et les BPC ou le *p,p'*-DDE. En introduisant l'EPA, le DHA ou la somme EPA+DHA dans les différents modèles, aucune modification des effets du Hg ou des BPC sur les performances n'a été notée. **DISCUSSION:** Les personnes âgées semblent être plus sensibles aux effets des polluants neurotoxiques. Malgré les faibles niveaux d'exposition, la fonction neurocognitive peut être affectée par l'exposition aux organochlorés chez les personnes âgées. L'énigmatique augmentation des performances des différents tests moteurs nécessite davantage d'investigation. Aux niveaux d'exposition du groupe à l'étude, aucune interaction significative entre le mercure et les BPC n'a été observée et, de plus nous n'avons noté aucun effet des acides gras sur les perturbations des tests neuropsychomoteurs observées chez ce groupe.

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Fish consumption is a source of exposure to neurotoxic pollutants such as PCB, mercury and *p-p'* DDE which bioaccumulate during lifetime and may interact on nervous system function. For PCB and mercury pollutants, neurodevelopment effect was extensively studied, however for adults, little is known about neurological effect following chronic low level co-exposure.

**OBJECTIVES:** (1) To investigate relations between PCB, *p-p'* DDE and mercury levels on neurobehavioral performances in a fish consumers group and (2) to assess possible interaction between those pollutants. **METHODS:** A total of 221 fish consumers (117 men and 104 women) aged between 18 and 74 years old were recruited from 2 communities in Canada. Questionnaires were administered and blood samples were analysed for 16 PCB congeners, *p-p'* DDE, total blood mercury and serum fatty acids EPA and DHA. Dioxin-like and Arochlor 1260 levels were computed. Hair samples were sampled and total Hg was analysed. Study group was stratified by sex and then by median age (50 years old) ranging from 18 to 49 years old for the younger group and from 50 to 74 years old for the older group. Multiple regression analyses were performed between bioindicators of exposure concentrations and neurobehavioral test scores, adjusting for potential confounders. **RESULTS:** All biomarkers of exposure increased significantly with age and were significantly higher for the older group. No consistent effects were observed by gender. No significant relations were observed between any of the biomarkers of exposure and the neuro-outcomes assessed in the younger group. Among the group older old, PCB but not Hg biomarkers, were associated to lower scores on neurocognitive tasks including Cognitive flexibility, Information processing speed, Working memory, Attention and Concentration, Visuo spatial memory and Visuomotor tracking speed. No relation was observed between PCB and motor tasks while for the sensory tests, serum dioxin-like PCB level was significantly associated with lower sensibility under lips. Blood and hair Hg biomarkers showed no association with the cognitive and sensorial functions but were associated with better performances on several motor tasks. These included manual dexterity, motor speed and coordination. No significant relation was observed between sensory function and Hg biomarkers. No significant interaction between Hg biomarkers and PCBs or *p,p'*-DDE were noted. No modification was observed on Hg or PCB effect while including EPA, DHA, EPA+DHA in the neuro-outcome models. **DISCUSSION:** Older people appear to be more sensitive to neurotoxic pollutant exposure. Even at low levels of exposure, neurocognitive function can be affected by organochlorine exposure in older persons. The puzzling increased in several motor tasks performances associated to biomarkers of Hg need more investigation. At this level of exposure, no significant interaction between PCBs and mercury and no effect of EPA and DHA on the neurobehavioral disturbances observed in this study groups.

## INTRODUCTION

The developing and aging brains are generally considered the most sensitive targets of neurotoxic agents (Weiss, 2000). There is, indeed, a substantial literature showing that exposure to low-level polychlorobiphenyls (PCBs) and mercury during critical phases of brain development (gestation and/or neonatal period) can alter future neuropsychological functions (for review see: Oken and Bellinger, 2008), but few studies have examined the effects of low-level exposures on neurobehavioral performance in adults. Negative associations between serum PCB levels and memory and learning ability have been reported for older (>50 years) fresh-water fish eaters in the United States (Fitzgerald et al., 2007; Schantz et al., 1999; Schantz et al., 2001). In a study of persons from the Mohawk Nation residing near a superfund site, whose age ranged from 17 to 79 years old, Haase et al. (2009) reported an age-PCB interaction, with the older persons (>40 years old) showing PCB related deficits on tests of memory and motor function, but not the younger group. In Germany, thirty employees (37 to 61 years old) exposed to chronic indoor air PCB inhalation, presented subtle attenuation of emotional well-being and attention function compared to controls (Peper et al., 2005). Older people may be at greater risk for nervous system deficits from age-related increasing OCs body burden (Dirtu et al., 2006; Nichols et al., 2007) and because dopamine and many other neurotransmitters decrease with advancing age (Amenta et al., 2001; Fowler et al., 1980; Seegal et al., 1994), leading to an increase in neurodegenerative process rate (Seegal, 1994).

Neurological damage from very high level mercury exposure was extensively studied in adults following the tragic disasters in Japan and Iraq (for review see: Ekino et al., 2007). At lower levels of mercury exposure, neurobehavioral effects have been reported for adult high fish consumers (Carta et al., 2003; Dolbec et al., 2000; Lebel et al., 1998; Yokoo et al., 2003). In the Baltimore Memory Study, which

focussed on older urban adults (>50y) with low-level mercury exposure, a negative relation was observed between blood total mercury and visual perception and memory, but a positive relation with motor speed (Weil et al., 2005).

Fish consumption is one of the major routes of exposure for contaminants that bioaccumulate. But fish is also a highly nutritious food and can be an important source of omega-3 fatty acids (Mahaffey et al., 2008). Studies of neonates and children have shown, in the same cohort, positive effects of fish consumption on neurodevelopment and negative effects of mercury exposure (Oken et al., 2008). In adults, omega-3 has been shown to be cardio-protective, but little is known about its effects on neurobehavioral performance. In the study cited above, Weil et al. (2005) estimated omega-3 intake from questionnaire data on fish consumption, but observed no consistent modification of the neurobehavioral relations with mercury.

The general population is exposed to a mixture of low level environmental contaminants, which may have synergistic or additive adverse effects depending on their mechanism of action. Few studies have assessed the potential for synergistic or additive adverse effects of co-exposure to Hg and PCBs. Interaction between PCBs and MeHg was observed in *in vitro* experiments in nerve cells (Bemis and Seegal, 1999; Bemis and Seegal, 2000), as well as *in vivo* studies in developing animals (Coccini et al., 2007; Roegge et al., 2006; Roegge and Schantz, 2006; Roegge et al., 2004). In studies of children's neurodevelopment, PCB and mercury interactions have been reported (Grandjean et al., 2001; Stewart et al., 2003).

In Quebec, Canada, we examined total fish consumption (market and catch) in relation to mercury exposure (Abdelouahab et al., 2008) and serum fatty acids (Philibert et al., 2006) among fresh-water fish-eaters from lakeside communities. Biomarkers of mercury, although weakly, were related to fish consumption, but no relation was observed between fish consumption and omega-3 serum fatty acids. In

the same study, serum organochlorines (PCBs and organochlorine pesticides) were likewise assessed but were not related to fish consumption. The aims of the present study were (i) to examine the relations between bioindicators of exposure to Hg and organochlorines and neurobehavioral performance in younger (<50y) and older ( $\geq$ 50y) persons; (ii) to explore the potential interaction between Hg and OCs on performance; (iii) to explore the effect and influence of omega-3 fatty acids on these outcomes.

## **METHOD**

### **Study Design and Population**

This study used a cross-sectional design and targeted freshwater fish-eaters from lakeside communities in two regions of Québec, Canada: Lake St-Pierre (LSP), a fluvial lake of the St-Lawrence River, and three lakes of North eastern Québec (Abitibi area). Participants (n = 259) were recruited in collaboration with regional fishers' associations. Eligibility criteria included age ( $\geq$  18 years) and self reported consumption of freshwater catch. The study was carried out in March - April 2003 in LSP, and in July - August 2003 in the Abitibi region. Serum OCs were only obtained for 239 persons due to loss of samples. *Post hoc* exclusion criteria included: reported neurological illness (n=6); alcohol consumption  $\geq$  420g (n=12). The final group included 221 persons (117 men and 104 women).

The study protocol was approved by the Ethics Committee of the University of Quebec at Montreal and an informed consent form was signed by each participant.

## Questionnaire

Socio-demographic information was collected using a self-administered questionnaire, which included information on age, education, family income, drinking and smoking habits, occupation, occupational and recreational exposure to chemicals, medical history, medication and number of dental amalgams. Participants' height and weight were measured and body mass index was calculated (BMI) as weight (kg) / height (m<sup>2</sup>). In addition, participants were requested to bring all medication that they were currently taking. These were recorded by a registered nurse and then classified with respect to their pharmaceutical family.

## OC analyses

For OCs (16 PCB congeners and *p,p'*-DDE) analysis, blood was collected in 10 ml Vacutainer Hemogard tubes with EDTA (no. 7863), Becton-Dickinson, San Jose, CA). Tubes were centrifuged at 1500 g for 20 min. The serum was then removed (top layer with a transfer pipette, transferred to 7 ml "crew-top" storage tubes (Supelco # 2-7341) and frozen at -20 °C. Laboratory analyses of PCBs and chlorinated pesticides were performed at the Centre for Indigenous Peoples' Nutrition and Environment, McGill University using a Gas chromatography-mass spectrometry (Varian Saturn Walnut Creek, CA). The extraction and cleanup protocols were performed as described by Covaci and Schepens. (2001) with the following modifications: labelled Chrysene (5 µl) was added as recovery standard to the final concentrate and DB-5MS, 5% phenylmethylpolysiloxane (30 m x 0.25 mm i.d. and 0.25 µm film thickness) was used as capillary column. The samples were loaded onto Varian 8200 CX auto sampler and 1 µl injections were made using the sandwich injection technique. Routine checks of accuracy and precision were performed using



reference materials (1589a PCBs, Pesticides and Dioxins/ Furans in Human Serum) from the National Institute of Standards and Technology (Gaithersburg, MD, USA). A blank sample was injected every 11 samples.

### **Lipid determination**

Plasma lipid determination was performed at the Research Centre for Lipid Disease of the Hospital Centre of Laval University. Plasma total lipids were calculated using the formula reported by Phillips et al. (1989), which can be applied to fasting and non fasting samples. Total lipids =  $1.677$  (total cholesterol – free cholesterol) + free cholesterol + triglycerides + phospholipids.

### **Serum fatty acids**

For fatty acid analysis, blood was collected in 10 ml tubes. After centrifugation, serum was removed and frozen at  $-20$  °C. All fatty analyses were performed at the Centre for Studies on Indigenous Nutrition and Environment (CINE) of McGill University and based on the method of Folch et al. (1957) and Sperry and Brand. (1955). Quantification fatty acid methyl esters (FAME) were separated on a Supelcowax-10 fused silica capillary column (30 m- 0.32 mm internal diameter, 0.25  $\mu$ m film thickness) in a Star 3400CX gas chromatograph (Varian, Palo Alto, CA) with a flame ionization detector and helium as a carrier gas. Serum FAs: docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic acid (EPA) are expressed as mg/mL serum.

### **Blood Hg determination**

For metal analyses, blood samples were obtained by venipuncture in 10-ml metal-free Becton-Dickinson Vacutainer blood collection tubes with 0.05 ml of 15% EDTA K3. Samples were coded, stored at 4 degree and sent daily to the Quebec Center of Toxicology of the Quebec Institute for Public Health (CTQ-INSPQ). Total Hg (THg) and inorganic Hg (IHg) were analyzed by Cold Vapor Atomic Absorption Spectro-photometry using a mercury monitor (model 100; Pharmacia Instruments, Piscataway, NJ, USA). The limit of quantification was 0.2  $\mu\text{g/l}$ . Organic Hg (MeHg) was calculated as the difference of THg and IHg. Certified reference material was analyzed for quality control purposes. The CTQ-INSPQ is ISO 17025-accredited and analytical performance for Hg analysis in the Interlaboratory Comparison Program for Metals in Biological Media was 36/36 for precision and 6/6 for reproducibility.

### **Hair mercury**

Hair samples were collected from the occipital region of the head close to the scalp. The lock of hair was then stapled at the base and stored in identified ziploc bags until analysis. The hair strand was cut into consecutive centimeter segments. Following sulfuric and nitric acid digestion of each segment, total hair Hg (HHg) was analysed by cold -vapor atomic fluorescence spectrometry (CV-AFS) at the laboratory of the Geochemistry and Geodynamics Research Centre (GEOTOP-UQAM-McGILL), according to the procedure described by Bloom and Fitzgerald (1988). Detection limit was 1 ng/g and quantification limit was 3 ng/g. Precision and accuracy of Hg determination were ensured by using an internal hair standards provided by the International Atomic Energy Agency (Analytical Quality Control Services) and a two blanks were added to each series. The GEOTOP lab participates

in an inter-laboratory comparison program for mercury in human hair. Fifty of the 54 standard samples (92.5%) were within one standard deviation and the other four were within two standard deviations (Gill et al., 2002). For the present analyses, the mean of the first 3 cm was used.

### **Neurobehavioral test battery**

The neurobehavioral test battery was administered by trained personnel. The same test sequence, which lasted three hours, was followed by all participants. At the two study sites, motor and sensory tests were administered by the same administrator, but for the cognitive tests, we were obliged to change test administrators between sites.

### **Cognitive Test Battery**

*1- Trail Making A and B Test* (Reitan, 1958). This test is administered in two parts. Trail Making A assesses visuomotor tracking and requires the subject to connect 15 successive numbered circles, randomly distributed, in numerical order. The Trail Making B, which assesses symbol set and shifting, provides a measure of cognitive flexibility and requires the subject to alternate from number to letter. For each task, time (sec) was noted.

*2- Stroop Color and Word Test* (Golden et al., 1978). The Stroop Color and Stroop Word assess information processing speed. In the word test, the subject is presented with a page containing 5 columns of 20 words (red, green or blue), printed randomly in black ink, which he/she is asked to read as quickly as possible. In the color test, the

100 items consist of “XXXX” printed in red, green or blue ink. Here, the respondent is asked to indicate the color. The Color/Word trial assesses executive functioning and cognitive flexibility. In this case, the words “red”, “green” and “blue” are printed in different colors than the name of the word; the person is asked to state only the color and thus has to ignore the printed word. The number of items named is noted for each task.

**3-Digit Span (backward and forward)** (Wechsler, 1981). This test provides measures of mental tracking and sustained concentration. The person is asked to immediately recall a progressively increasing series of digits read by the examiner (minimum 3, maximum 9). The Digit Span Backward requires the person to repeat the digits in reverse order (minimum 2, maximum 8). The score of one is attributed to each correct sequence; the test is stopped when the person does not succeed in repeating 2 sequences of the same amount of numbers. The total score is the sum of the number of correct sequences.

**4- Cancellation H** (Diller et al., 1974). This test, which assesses visuomotor tracking speed, requires the person to cross out the letter H distributed among other letters arranged in six lines. The time (sec) taken to complete the tasks is noted.

**5- Cancellation figures** (Diller et al., 1974). This Cancellation test uses figures rather than letters. It requires the subject to cross out the figures (⊗) distributed among other figures arranged in six lines. The time (sec) taken to complete the tasks is noted.

**6- The Rey-Osterrieth Complex Figure.** This test is composed of three parts. In the first part (Rey-Osterrieth Copy Task), a complex geometric figure is presented and the person is asked to copy it on a sheet of paper. In the second part (Rey-Osterrieth Immediate Copy), the subject is asked to re-draw the figure from memory. The third part (Rey-Osterrieth Delayed Copy) is administered 30 minutes later and the person is

asked to redraw the figure. The scoring was performed by a neuropsychologist according to Lezak (2004).

**7- The Symbol Digit** (Smith, 1968) test assesses visuomotor tracking speed. In this task, the person is presented with a series of symbols associated to numbers (0–9) and asked to fill in, on the same page, the symbol associated with the number. The number of correctly recoded symbols during 90 s is recorded. At the second part of the test, the model is hidden and the person is asked to recall the digits associated with the symbols; the number of correct digits is recorded.

**8- The List Learning and Recall tasks** (Knopman and Ryberg, 1989) includes three tests, (i) List learning subtest, an auditory verbal learning tasks which requires the person to recall a list of 12 words (List Acquisition Score) (ii) The List Recall subtest requires the person to recall the words presented in the list learning subtest. The total number of words recalled is noted. (iii) Delayed List Recall subtest, administered 25 min after the list learning test, requires the person to recall the words presented in the. The total words recalled are noted.

### **Motor functions**

(1) **Santa Ana test** -Helsinki version (Hänninen and Lindstrom, 1979). This test evaluates manual dexterity and motor coordination (The person is asked to turn circular pegs 180° and replace them in their holes as quickly as possible. The number of pegs successfully turned in 30 secs is noted; 2 trials were performed for each hand and the mean number of pegs was calculated for each hand.

(2) ***The Grooved Pegboard test*** (model 32025, Lafayette Instruments) (Fleishman, 1954b). This test assesses motor speed and fine motor dexterity. The person is asked to place 25 pegs into holes angled in different directions, as quickly as possible. The pins are key-shaped and need to be rotated to fit into the holes. Time to complete two trials was noted and mean time for each hand is presented here.

(3) ***Fingertapping*** (model 32726, Lafayette Psychological Instrument). This test evaluates psychomotor speed (Fleishman, 1954a). The person is asked to press a tapping key, connected to a counter, with the index finger, as fast as possible for 10 seconds. The test is repeated 3 times and the mean for both hands is used here.

(4) ***Branches Alternate Movement Task (BAMT)*** (Lebel et al., 1998). This is a task of movement coordination. The person is required to place the left hand over the right knee and the right hand over the left knee, alternatively by moving one hand over the other. Number of movements is noted over a 30–seconds period.

(5) ***Simple reaction time***. This test of psychomotor speed lasts six minutes, during which the participant must push down a button with the index finger as quickly as possible following a visual lights stimulus which appears at different intervals. Mean reaction time, standard deviation, minimum and maximum time and the number of correct responses are displayed.

## Sensory Functions

Sensory function assessment included near visual acuity, near visual contrast sensitivity, chromatic discrimination and tactile sensitivity. All of the visual tests were performed in a darkened room with standardized light (1100 lux daylight) from a neon bulb placed 30 cm above the table top where the tests were performed.

(1) *Near visual acuity* was assessed with the National Optic Chart, placed at 37 cm from the participant. The mean value for the both eyes is used here.

(2) *Near visual contrast sensitivity* was evaluated using the Vistech 6000 card system, according to the procedure described by (Kennedy and Dunlap, 1990). This test assesses near visual contrast sensitivity threshold at 1.5, 3, 6, 12 and 18 cycles per degree. At each of these frequencies there are 8 sinusoidal grating of diminishing contrast, the participant indicates the orientation of the grating, which are vertical or inclined to the right or the left.

(3) *Chromatic discrimination* was assessed with the Lanthony D-15 Desaturated Colour Vision Test (D-15d) (Lanthony, 1978). Each eye was tested separately. The D-15d test results were scored according to the method proposed by Bowman (1982), by calculating the sum of colour differences between adjacent caps (total error score), dividing it with the sum of perfect arrangement total error score. This is expressed as the Colour Confusion Index (CCI)

(4) **Tactile Sensitivity** was assessed by the two-point discrimination test using the aesthesiometers (compass) (Carlson et al., 1979). Persons had their eyes closed and one or two points of the compass were pressed on the skin. The smallest distance at which the person felt the two contact points was recorded.

## Statistical analysis

Descriptive statistics were performed to characterize socio-demographic parameters, tests scores and bioindicators of exposure to OCs and Hg. The relations between age, Hg and OCs concentrations were tested using partial Pearson correlations. We limited our statistical analyses non-ortho-substituted (dioxin-like) PCBs (PCB 105, PCB 118, PCB 128, PCB 138, PCB 170), Arochlor 1260 ((PCB 138 + PCB 153)\*5.2) and *p,p'*-DDE and hair and total blood Hg. For samples where concentrations were undetectable, the value of LOD/2 was applied. Because of their skewed distribution, OC and Hg concentrations were log-transformed for parametric analyses.

Multiple regression models were used to examine the relations between bioindicators of exposure and neuro-outcomes. Since age (Simpkins and Millard, 1987), gender (Lin et al., 2008) and education (Proust-Lima et al., 2008) are determinants of neurobehavioral performance, they were included in all regression models as a fixed variable. The variable “ecosystem” was always included for the cognitive tests since test administrators differed between sites. The stepwise mixed procedure was used to test relationships between neurobehavioral test scores and potential co-factors such as smoking, drug and alcohol consumption, medications, fish consumption and serum EPA+DHA, with significance set at  $p < 0.1$ . Collinearity between variables was assessed by Variance Inflation Factors (Belsley et al, 1980). Residual analysis was performed in order to examine assumptions of the multiple regression models. Cook’s distance influence statistics were calculated to identify influential observations and remove them from analyses.



Since PCBs and DDE body burden increase with age and studies suggest that effects would be observed in older persons (Haase et al., 2009; Schantz et al., 2001), the interaction between age and contaminants was also tested. Results showed that for the organochlorines, an age-contaminant interaction significantly entered the model for several outcomes. We thus stratified the analyses with respect to age (</> 50 y) in order to capture the specific co-variables that are related to outcomes for each age group. For example, while overall there is no relation between reported arthritis and fine manual dexterity, this co-variable enters significantly into the model for the older group. The same procedures described above were then applied to each age category. Co-variables retained in models derived from the stepwise procedure above, are listed in Table 4.1.

To test whether effects differed between men and women, statistical analyses stratified by gender were also performed, with age included in the model as a continuous variable. Possible interaction between Hg and OCs, as well as possible interaction between EPA+DHA with Hg and OCs were tested for each model.

All statistical analyses were performed using JMP 5.0.1a (SAS Institute Inc., 1999). The criterion for significance was set at  $p < 0.05$ .

Tableau 4.1 Covariates retained in the final models

<b>Outcome measures</b>	<b>&lt; 50 years old</b>	<b>&gt; years 50 old</b>
Trail making B	Age , gender , ecosystem, education	Age, gender, education, ecosystem
Stroop color -word-trial	Age, gender, ecosystem, education, solvent exposure,	Age, gender, education, ecosystem
Rey Osterrieth	Age, gender, ecosystem, education	Age, gender, education, ecosystem, vitamins use, coffee intake
Stroop (color trial)	Age , gender, ecosystem, education, solvent exposure	Age, gender, education, ecosystem
Stroop (word trial)	Age, gender, ecosystem, education, alcohol intake, solvent exposure, smoking status	Age, gender, education, ecosystem
Digit Span forward	Age, gender, ecosystem, education	Age, gender, education, ecosystem, coffee intake, hypotensors.
Digit Span backward	Age, gender, ecosystem, education	Age, gender, education, ecosystem
Delayed list recall	Age, gender, ecosystem, education	Age, gender, education, ecosystem
Digit Symbol recall	Age , gender, ecosystem,	Age, gender, education, pesticide exposure, vitamins use
Rey Osterrieth Recall	Age, gender, ecosystem, education,	Age, gender, education, ecosystem, thyroid regulator, solvent exposure,
Digit symbol	Age , gender, ecosystem, education	Age, gender, education, ecosystem, thyroid regulator, hypotensors,
Trail making A	Age, gender, ecosystem, hypotensors	Age, gender, education, ecosystem, thyroid regulator glucose regulator
Cancelation H	Age, gender, ecosystem,	Age, gender, education, ecosystem, neuroleptic
Cancelation figure	Age, gender, ecosystem,	Age, gender, education, ecosystem
<b><u>Motor Skills</u></b>		
Santa Ana (number)		
dominant hand	Age, gender, education, ecosystem	Age, gender, education, neuroleptic, solvent exposure, retirement.
non dominant hand	Age, gender , education, thyroid regulator	Age, gender, education, solvents exposure.
Grooved Pegboard		
dominant hand	Age, gender, smoking status, solvent exposure ,	Age, gender, hands problems*, retirement
non dominant hand	Age, gender, ecosystem, drug and alcohol intake	Age, gender, hands problems*, retirement
Reaction time	Age, gender	Age, gender, solvent exposure (hobbies), hypotensors
Finger taping		
Dominant hand	Age, gender, ecosystem, solvent exposure	Age, gender, diabetes medication
non dominant hand	Age, gender, ecosystem, alcohol, vitamins intake.	Age, gender
Branches test	Age, gender, neuroleptics, solvent expos	Age, gender, education,
<b><u>Sensory tests</u></b>		
Color vision (CCI)		
Right eye	Age, gender, smoking, solvent exposure,	Age, gender, education, visual acuity
Left eye	Age, gender, smoking, education	Age, gender, education , visual acuity
Contrast sensitivity		
1.5 cps	Age, gender, visual acuity	Age, gender, visual acuity
3.0 cps	Age, gender, visual acuity	Age, gender, visual acuity
6.0 cps	Age, gender, visual acuity	Age, gender, visual acuity
12.0 cps	Age, gender, visual acuity	Age, gender, SAIDs, visual acuity
18.0 cps	Age, gender, visual acuity	Age, gender, SAIDs, visual acuity
Two point discrimination		
Under lips	Age , gender, drug intake, pesticide exposure	Age, gender , hormones medication
Index	Age, gender	Age, gender, smoking status, pesticide exposure in hobby practice.
Little finger	Age , gender, alcohol intake, neuroleptic	Age, gender,

\* Hands problems included arthritis, hands injuries, and chirurgical intervention.

## RESULTS

No inter-community differences were observed for socio-demographic parameters between oldest and youngest participants or when the two were combined. Table 4.2 presents the socio-demographic characteristics for the younger and older persons. The older current smokers reported smoking an average of 22.7 cigarettes/d, while the younger smokers reported 17.5 cigarettes/d. There was no difference in alcohol consumption, which was on average 127.2 g/wk for the older persons and 122.2 g/wk for the younger ones. About 24.4% of the study group (22% ( $\geq 50$ y) and 26.8% ( $<50$ y)) had annual incomes  $< 25\ 000$  \$. Current occupational exposure to metals, solvent and pesticides was reported in both groups but no one reported occupational exposure to Hg or PCBs. Contrary to other medication, the prevalence of the neuroleptic medication was not different between the younger and older participants.

Tableau 4.2 Characteristics of the study group stratified by age

	< 50 years ( N=109)	> 50 years ( N=112)	t-test <i>p</i>
	Mean $\pm$ SD Range	Mean $\pm$ SD Range	
Age (years)	37.7 $\pm$ 9.0 18- 49	60.4 $\pm$ 6.3 50-74	<0.0001
Education (years)	12.9 $\pm$ 3.1 3-21	11.2 $\pm$ 3.7 4-19	0.0002
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26.1 $\pm$ 5.3 17.4- 42.2	28.1 $\pm$ 5.0 19.2- 42.8	0.002
	N (%)	N (%)	Chi Sq
Men	51 (47)	66 (59)	
Women	58 (53)	46 (41)	
Smoking habits			
Smokers	41 (38)	14 (13)	<0.0001
Currently drinks alcohol	86 (80)	85 (78)	0.66
Occupational exposure	56 (51)	39 (35)	0.01
Medication			
Glucose regulator	2 (2)	9 (8)	0.02
Cardiovascular	3 (3)	27 (24)	<0.0001
Hypotensors	8 (7)	35 (31)	<0.0001
Neuroleptic	12 (11)	17 (15)	0.35
Thyroid regulator	3(3)	11 (10)	0.04

Table 4.3 summarizes the percentile distribution of dioxin-like, Arochlor 1260, *p-p'*-DDE, biomarkers of mercury. All biomarkers of exposure were higher for the older group. Within the two groups, positive correlations between age and all the contaminants was observed with the highest correlation ( $Rho = 0.38$ ,  $p < 0.0001$ ) with HHg for the older persons. In both groups, hair Hg was highly correlated ( $p < 0.0001$ ) to blood Hg ( $Rho = 0.84$  and  $0.87$  for the younger and older groups, respectively). However, the correlations between biomarkers of Hg and OCs and between OCs were different for the two age groups. For the younger persons, only hair Hg showed a weak correlation with Arochlor 1260 ( $Rho = 0.23$ ;  $p = 0.02$ ), and *p-p'*-DDE was significantly correlated to Dioxin-like PCBs ( $Rho = 0.28$ ;  $p = 0.002$ ) and Arochlor 1260 ( $Rho = 0.22$ ;  $p = 0.02$ ). No correlation was observed between Arochlor and dioxin-like PCBs. For the older group, blood and hair Hg were weakly correlated to *p-p'*-DDE ( $Rho = 0.21$ ;  $p = 0.03$ ;  $Rho = 0.19$   $p = 0.04$ ), but not to the others. Arochlor 1260 was highly correlated to *p-p'*-DDE ( $Rho = 0.38$ ;  $p < 0.0001$ ) and dioxin-like ( $Rho = 0.34$ ;  $p = 0.0003$ ) but *p-p'*-DDE and dioxin-like PCBs showed a weak correlation ( $Rho = 0.18$ ;  $p = 0.06$ ). No difference in Hg biomarkers, serum dioxin-like PCBs, Arochlor 1260 and *p-p'*-DDE levels were observed between men and women in either age group

Serum EPA and EPA+DHA concentrations were higher for the older group but were not in the case of DHA (Table 3). For the two groups, no difference in serum EPA, DHA and EPA+DHA levels was observe between men and women.

Tableau 4.3 Serum concentrations of OCs, total Hg in whole blood and hair and serum fatty acids stratified by age

	< 50 years (n =109)				> 50 years (n =112)				Wilcoxon test p
	25th	50th	75th	Max	25th	50th	75th	Max	
<b>Serum OCs (µg/L)</b>									
Dioxin-like PCBs	149.4	328.1	548.6	2810.6	224.0	476.0	745.6	2328.1	<0.0001
Arochlor 1260	2.00	3.14	4.37	21.91	3.45	5.05	7.40	34.32	<0.0001
Sum PCBs	0.87	1.27	1.82	5.79	1.39	1.88	2.55	9.00	
<i>p,p'</i> -DDE	0.71	1.07	1.98	4.69	1.20	1.98	3.96	8.12	<0.0001
<b>Whole blood Hg (µg/L)</b>									
THg	0.50	1.40	3.70	25.90	1.03	3.4	7.25	73.7	<0.0001
<b>Hair (µg /g)</b>									
HHg	0.118	0.318	0.724	5.413	0.325	0.892	1.818	8.161	<0.0001
<b>Fatty acids (mg/mL)</b>									
EPA	0.02	0.03	0.05	1.74	0.03	0.04	0.06	0.39	0.0004
DHA	0.03	0.07	0.10	1.97	0.04	0.08	0.13	0.29	0.13
EPA+DHA	0.05	0.10	0.15	3.70	0.08	0.13	0.18	0.46	0.02

Neuropsychological test scores for the younger and older participants are presented in Table 4.4. With the exception of simple reaction time and Digit Span Backward, the older group performed significantly more poorly.

Tableau 4.4 Mean and standard deviation for the two groups (< and > 50 years old) on assessed neuropsychological test scores by domain stratified by age

Neuropsychological test	< 50 years	> 50 years	Wilcoxon T-test
	(N=109)	(N=112)	
	Mean ± SD	Mean ± SD	
<b>Cognitive tests</b>			
Cancelation H (sec)	71.9 ± 12.8	87.4 ± 18.3	<0.0001
Cancelation Figure (sec)	70.2 ± 15.5	87.4 ± 18.4	<0.0001
Trail Making A (sec)	28.9 ± 8.9	44.5 ± 14.1	<0.0001
Trail Making B (sec)	61.8 ± 21.9	91.0 ± 31.4	<0.0001
Digit Symbol (number)	53.2 ± 8.9	41.2 ± 9.8	<0.0001
Digit Symbol recall (number)	5.9 ± 2.5	4.4 ± 2.5	<0.0001
Digit Span forward (sec)	6.8 ± 2.0	6.4 ± 2.1	0.40
Digit Span backward (sec)	5.8 ± 2.1	5.1 ± 1.9	0.008
Stroop Word (number)	101.1 ± 15.1	95.1 ± 15.0	0.004
Stroop Color (number)	73.3 ± 11.0	65.0 ± 10.2	<0.0001
Stroop Color-word (number)	39.7 ± 10.8	29.7 ± 9.5	<0.0001
Figure Rey Osterreith (number)	29.6 ± 4.2	28.2 ± 4.6	0.01
Figure Rey Osterreith recall (number)	16.6 ± 6.4	13.4 ± 5.6	0.001
World List (number)	58.9 ± 8.9	54.5 ± 10.2	0.0008
World List recall (number)	10.4 ± 1.7	9.7 ± 1.7	0.003
Delayed Word List recall (number)	10.3 ± 1.8	9.2 ± 2.2	0.0002
<b>Motor tests</b>			
Santa Ana – dominant hand (number)	21.7 ± 2.8	18.9 ± 2.6	<0.0001
Santa Ana – non dominant hand (number)	20.3 ± 2.6	18.0 ± 2.6	<0.0001
Grooved Pegboard- dominant hand (sec)	57.1 ± 11.2	66.5 ± 11.2	<0.0001
Grooved Pegboard- non dominant hand (sec)	63.9 ± 24.1	71.6 ± 12.3	0.003
Reaction time- (sec)	0.27 ± 0.05	0.28 ± 0.04	0.22
Fingertapping- dominant hand (number)	47.4 ± 6.2	44.6 ± 7.9	0.002
Fingertapping- non dominant hand (number)	43.1 ± 6.2	40.5 ± 6.3	0.004
Branches Task (number)	55.5 ± 14.4	47.8 ± 12.5	<0.0001
<b>Sensory tests</b>			
Color Vision			
Right eye (CCI)	1.3 ± 0.3	1.5 ± 0.4	0.003
Left eye (CCI)	1.3 ± 0.3	1.4 ± 0.4	0.0007
Contrast Sensitivity			
1.5 cps	54.9 ± 6.03	51.5 ± 7.8	0.0004
3.0 cps	93.79 ± 11.18	86.7 ± 15.4	0.0001
6.0 cps	119.35 ± 28.5	97.1 ± 27.3	<0.0001
12.0 cps	102.50 ± 25.3	81.7 ± 24.9	<0.0001
18.0 cps	31.21 ± 9.50	22.9 ± 10.6	<0.0001
Two point discrimination			
Under lips (mm)	5.5 ± 1.9	6.3 ± 1.8	0.003
Index (mm)	3.8 ± 1.1	4.2 ± 1.0	0.002
little finger (mm)	4.7 ± 1.3	6.3 ± 1.9	0.02

For the younger group, no significant relations were observed between any of the biomarkers of exposure and any of the neuro-outcomes assessed here. Table 4.5 presents the beta estimate for each of the biomarkers of exposure in the multiple regression models for the cognitive test scores for the older participants. For the models with Hg and OCs, if one of the other biomarkers entered into the model at  $p < 0.1$ , they were included in the final model. The same procedure was followed for EPA and DHA and the sum EPA+DHA. Sum PCB was associated with poorer scores on Stroop Word and tendency significance ( $p < 0.10$ ) for Digit Symbol. Serum concentration of dioxin-like PCBs was significantly associated with poorer performance on the following tests: Rey Osterrieth Immediate Copy, Stroop Word, Digit Span forward, Digit Span backward, Rey Osterrieth Copy delayed recall, Digit Symbol, Trail making A, Cancellation H and Cancellation Figure. Serum Aroclor 1260 was related to poorer scores on Stroop Word trial, Digit Span backward, Digit symbol, Trail-Making A and a tendency ( $p < 0.10$ ) was observed for Cancellation Figure and Digit Span forward. Increased *p,p'*-DDE level was associated with poorer performance for Digit Symbol Recall and a tendency significance ( $p < 0.10$ ) for Trail making B.

Hair Hg concentration was associated with better performance on Digit Symbol, Trail-Making A and Cancellation Figure. EPA, DHA and EPA+DHA did not enter into any of the models at  $p < 0.1$ .

Tableau 4.5 Regression slope estimates for  $\Sigma$ PCB, dioxin-like congeners, Arochlor 1260,  $p,p'$ -DDE, THg and HHg, in relation to Cognitive test scores for older group

	<b>&gt; 50 years (N =112)</b>					
	<b><math>\Sigma</math>PCB</b>	<b>Dioxin-like</b>	<b>Arochlor 1260</b>	<b><math>p,p'</math>-DDE</b>	<b>THg</b>	<b>HHg</b>
<b><u>COGNITIVE FUNCTION</u></b>						
<b><i>Cognitive flexibility and executive functioning</i></b>						
Trail making B	-3.06	0.33	2.44	<b>-8.41<sup>+</sup></b>	-2.31	-2.91
Stroop color-word	-1.27	-1.89	-0.71	-0.67	1.16	1.13
Rey Osterreith immediate recall	-0.64	<b>-2.68*</b>	-0.13	0.05	-0.19	-0.08
<b><i>Information processing speed</i></b>						
Stoop color	-1.62	-3.36	-0.48	1.93	0.15	0.41
Stroop word	<b>-8.75*</b>	<b>-12.73**</b>	<b>-5.63**</b>	-0.32	-0.23	0.27
<b><i>Working memory, attention and concentration</i></b>						
Digit span: forward	-0.88	<b>-1.42*</b>	<b>-0.49<sup>+</sup></b>	-0.49	-0.001	0.04
Digit span: backward	-0.61	<b>-1.40**</b>	<b>-0.58*</b>	0.01	-0.07	0.07
Delayed list recall	0.29	0.24	0.13	-0.11	-0.07	0.05
Digit symbol recall	-0.23	-0.60	-0.28	<b>-0.83*</b>	0.02	0.22
<b><i>Visuo spatial memory</i></b>						
Rey Osterreith, delayed recall	-1.34	<b>-3.86*</b>	-1.04	-0.91	-0.24	0.11
<b><i>Visuomotor tracking speed</i></b>						
Digit Symbol	<b>-3.90<sup>+</sup></b>	<b>-6.41*</b>	<b>-3.01**</b>	-1.39	0.69	<b>1.27*</b>
Trail Making A	4.27	<b>13.56**</b>	<b>4.84**</b>	-0.04	-0.28	<b>-2.17*</b>
Cancelation H	5.77	<b>12.37*</b>	3.74	7.10	-0.50	-0.91
Cancelation figures	4.40	<b>11.13*</b>	<b>4.53<sup>+</sup></b>	1.42	-0.62	<b>-2.85*</b>

<sup>+</sup> p<0.10, \* p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001

Table 4.6 shows the relations between, OCs groups, Hg biomarkers and motor skills and sensory function tests for the group > 50 years old. Serum dioxin-like PCB level was significantly associated with poorer scores on two-point discrimination under lips and a tendency was observed with two point discrimination for the index finger. No relation was observed between motor and sensory tests and  $\Sigma$ PCB, Arochlor 1260 or  $p,p'$ -DDE.



Blood Hg was related to better performance on the Grooved Pegboard; the non-dominant hand was highly significant, while the dominant hand showed a tendency. A significant positive association was also observed between blood Hg and Fingertapping with the dominant hand and the performance on the Branches Alternate Movement. Hair Hg was associated with better performance on several motor tests: Grooved Pegboard (the two hands), Simple Reaction Time, Fingertapping (dominant hand) and the Branches Alternate Movement Task. No relation was observed between Hg biomarkers and sensory tests. EPA, DHA and EPA+DHA did not enter into any of the motor or sensory models at  $p < 0.10$ .

Tableau 4.6 Regression slope estimates for  $\Sigma$ PCB, Dioxin-like congeners, Arochlor 1260,  $p,p'$ -DDE and THg, HHg, in relation motor and sensory test scores for older group.

	<b>&gt; 50 years (N =112)</b>					
	$\Sigma$ PCB	Dioxin-like	Arochlor 1260	$p,p'$ -DDE	THg	HHg
<b><u>MOTOR FUNCTION</u></b>						
<b><i>Manual dexterity</i></b>						
<b>Santa Ana</b>						
dominant hand	-1.05	-0.67	-0.12	-0.39	0.19	0.13
non dominant hand	-1.07	-0.36	-0.27	-0.49	0.30	0.14
<b>Grooved Pegboard</b>						
dominant hand	-1.44	3.57	0.72	1.56	-1.27 <sup>+</sup>	-1.38*
non dominant hand	-2.71	-1.58	-0.69	-1.20	-2.12***	-2.62***
<b><i>Motor speed</i></b>						
Simple reaction time	0.008	-0.007	0.006	0.006	-0.002	-0.006*
<b>Fingertapping</b>						
dominant hand	0.44	-1.40	0.50	1.55	0.99*	1.09*
non dominant hand	2.05	-0.32	1.10	0.47	0.22	0.41
<b><i>Coordination</i></b>						
Branches test	0.67	-3.84	-1.44	-3.66	1.81*	1.91*
<b><u>SENSORY FUNCTION</u></b>						
<b><i>Chromatic discrimination (Chromatic confusion index)</i></b>						
CCI right eye	0.004	-0.05	0.07	0.06	0.03	0.01
CCI left eye	-0.03	-0.07	-0.06	-0.08	0.01	-0.01
<b><i>Near visual contrast sensitivity</i></b>						
1.5 cps	0.10	-3.74	-0.43	-0.44	0.06	0.02
3.0 cps	0.47	-6.78	-0.53	-0.75	0.82	0.29
6.0 cps	3.68	-6.73	0.17	-0.18	2.60	1.32
12.0 cps	-0.41	-7.15	-2.94	-1.32	2.07	2.75
18.0 cps	-0.48	-2.37	1.02	-1.37	0.03	0.98
<b><i>Tactile Sensibility (Two point discrimination)</i></b>						
Under lips	0.79	1.68**	0.29	0.64	-0.001	-0.11
Index	0.41	0.56 <sup>+</sup>	0.44	0.32	-0.04	-0.05
Little finger	0.36	0.02	0.13	0.03	-0.02	-0.05

<sup>+</sup> p<0.10, \*p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\*p`<0.001

No interactions between Hg biomarkers and PCBs or *p,p'*-DDE were observed. In addition, introducing Hg in the OC models didn't change the significance or the direction of the relation. Even with stratification by PCB and HHg tertiles to target the highest exposed groups, no interaction was observed in the subgroups.

The interaction between EPA, DHA, EPA+DHA and Hg biomarkers and PCBs or *p,p'*-DDE was tested for all the neuro-outcome models. No significant interaction was observed.

No consistent effects were observed when stratifying by gender, with age as a continuous variable. There were too few persons to stratify both by gender and age.

## **DISCUSSION**

The findings of this study indicate that, even at low levels of exposure, neuropsychological function can be affected by OC exposure in older persons, but not among the younger. Those 50 years and older showed OC-related impairment in several domains including cognitive flexibility and executive functioning, information processing speed, working memory, attention and concentration visuo-spatial memory, visuo-motor tracking speed, as well as loss of tactile sensitivity under the lips. Motor functions remained intact.

The findings of the present study are similar to those reported by Schantz et al. (1999, 2001) and Fitzgerald et al. (2008) for persons 50 years and more, who observed loss of memory and learning ability in relation to PCB exposure. The interaction between age and PCB exposure on neurobehavioral performance observed in the present study has been reported by Haase et al. (2009) for persons from the Mohawk Nation in Akwasasne. They also observed PCB effects on cognitive

performance among older persons and their work suggests that this may be occurring around the age of 40 years. Although all of these studies indicate an age-related effect of PCBs, it is difficult to compare because in each study a different number of PCB congeners were used to calculate sum PCBs. In the present study, Arochlor 1260 levels were similar to those reported in a pilot study of sports fishers in Quebec (Ayotte et al., 2005; Kosatsky et al., 1999) but above those for the general United States (US) population above 20 years of age, reported in the US National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals (CDC, 2005). As a point of comparison, the 50th percentile of PCB 153 in the present study corresponds to the 90th percentile of the US report.

Both dioxin-like and non-dioxin-like PCB congeners have been shown to induce neurobehavioral alterations in animals and changes in levels of neurotransmitters in various brain areas have in animals (Roegge et al., 2006; Roegge and Schantz, 2006; Seegal, 1996). Of all the changes, the most observed was a decrease in dopamine level in basal ganglia and cortex (Faroon et al., 2001). Experimental studies clearly demonstrate that dopamine is implicated in a wide variety of functions such as attention, cognition, motor, and reward-related behaviours (Lee and Opanashuk, 2004). Indeed, in rodents, exposure to high dose of PCBs has been associated with slow kinetic movement (Seegal, 1996), impaired learning ability and behavioural withdrawal from stimuli (Schantz and Widholm, 2001), as well as discrimination and cubic conceptual disruption (Mele et al. 1986; Schantz et al. 1989; Seegal et al. 1991). These neurobehavioral effects have been explained by long-term decline in brain dopamine and serotonin content, observed in rats (Seegal, 1996; Seegal et al., 1991) and adult monkeys (Seegal et al., 1994). The impact of these neurotransmitters on neurobehavioral performance in healthy humans was documented by Volkow et al. (1998), who observed that decrease in dopamine D2 receptors was correlated to low motor and cognitive performance after controlling for age effect.

In the present study, serum *p,p'*-DDE was related to poorer scores in cognitive flexibility and executive function in the older persons, as well as working memory, attention and concentration. *p,p'*-DDE exposure was also related to visuo-motor tasks deficits in 27 retired malaria controlled workers (Van Wendel de Joode et al. 2001). Overall Schantz et al. (2001) did not observe an effect of DDE exposure in older adult fish consumers, but there was one positive relation with higher scores on delayed logical memory scores. In the present study, serum *p,p'*-DDE concentrations were lower than those reported for Quebec sports fisher study (Kosatsky et al., 1999). Compared to the U.S. population (CDC, 2005), serum *p,p'*-DDE median values were similar, but the upper 75<sup>th</sup> percentile was lower for this study group.

Contrary to what was expected, in the present study, biomarkers of Hg exposure were associated with better performance on several motor tasks, including fine manual dexterity, motor speed and coordination. Simple reaction time was also faster with higher levels of hair Hg. In the last years, toxic effects of Hg exposure on motor performance have been reported (Carta et al., 2003; Dolbec et al., 2000; Lebel et al., 1998; Yokoo et al., 2003). In these studies, mean hair and blood Hg concentrations were several time higher than those observed here, ranging from 4.2 to 23.9 ug/g for hair Hg and 36.1 to 44 ug/L for blood total Hg. In the present study, mean hair Hg was  $1.32 \pm 1.47$  ug/g, while mean blood Hg was  $5.68 \pm 8.40$  ug/L. In accordance to our results, a recent study conducted with Baltimore residents reported better performance on finger tapping in relation to blood Hg concentration; exposure was low and in a similar range to the present study (median blood Hg: 2.1 ug/L, range :0-16 ug/L) (Weil et al., 2005).

Enhanced performance of motor tasks in relation to Hg biomarkers is not clear. It has been postulated that omega-3 fatty acids, provided through fish consumption would protect against Hg toxicity and may be improve neurobehavioral performance (Moreira et al., 2009; Morris, 2009). In the present study, where we

measured serum fatty acids, this was not the case. At these levels of omega-3 fatty acids, no effect was observed either on neurobehavioral performance nor was an interaction observed with Hg. It should be noted that in this group, omega-3 fatty acids are relatively low compared to studies of marine fish-consumers and not related to freshwater fish consumption (Philibert et al., 2006). Another possibility is the hormesis effect, characterized by low dose stimulation and a high dose inhibition (Calabrese, 2003). In this case motor performance enhancement could reflect an early toxic effect of low dose Hg exposure expressed by an overcompensation response following an initial disruption. Some experimental findings support this hypothesis: MeHg is known to affect several parameters of cholinergic function and *in vitro* studies have shown that MeHg acts as a strong competitive inhibitor of radioligand binding to muscarinic cholinergic receptors (mAChRs) in rat brain (Basu et al., 2007). Coccini et al. (2000) reported an increase of splenic lymphocytes, mAChR density (95-198% of control) after low level MeHg exposure in rats. They concluded that these results suggest up-regulation of mAChRs after prolonged low-level ingestion of MeHg. Candura et al. (1997) observed that Hg exposure at very low doses enhanced the amplitude of the electrically-induced neurogenic cholinergic contractions due to facilitation of acetylcholine release, while higher mercury concentrations inhibited those contractions.

Hg exposure among participants in this study is relatively low, and similar to those reported in a pilot study of sports fishers in Quebec (Ayotte et al., 2005; Kosatsky et al., 1999), but above those for the general United States (U.S.) population above 20 years of age, reported in the U.S. National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals (CDC, 2005). As a point of comparison, the 50<sup>th</sup> percentile of THg in the younger and the older groups corresponds respectively to the 75<sup>th</sup> and 90<sup>th</sup> percentiles of the U.S report.

Gender differences have been reported with respect to PCB exposure. Lin et al. (2008), who examined both men and women in Yucheng reported that only women presented deficits in attention, visual memory and learning ability with respect to PCB and PCDF exposure, while no effect was observed for men. In the present study, no gender differences were observed but sample size was too small when stratifying both for age and gender.

In the present study, no interaction was observed between Hg and PCBs. The absence of any findings may be due to the low levels of exposure. According to Bemis and Seegal. (1999) and Roegge and Schantz. (2006) PCBs\*Hg interaction is dose dependant. Synergetic and additive adverse effects between PCBs and MeHg were observed in *in vitro* experiments in nerve cells (Bemis and Seegal, 2000), as well as *in vivo* studies in developing animals where exposure dose were much higher than human levels (Roegge et al., 2004, Roegge and Schantz, 2006, Coccini et al., 2007). In the two child studies which demonstrated potential PCBs\*Hg interaction on the neurobehavioral endpoints (Grandjean et al., 2001; Stewart et al., 2003), both Hg and PCBs were higher than in the present study. Moreover, when the group was divided into tertiles, the number of participants (n=28) in each tertile group may be insufficient to observe such an effect.

## **CONCLUSION**

This study supports the evidence that even at low levels of PCB exposure neuropsychological function can be affected by OC exposure in older persons. Because advances in health care and economic growth, people are living longer in occidental society. In Canada, life expectancy reached 82.7 years for women and 78 years in men (Statistic Canada. 2009). Despite their retirement, older people are still involved in cultural and social life. The challenge, at this time, is to seek and identify ways to prevent and to minimize neurotoxic pollutants exposure to prevent the long lasting neurological effect which can enhance and accelerate natural neuronal attrition associated with ageing.



## **ACKNOWLEDGEMENTS**

We gratefully acknowledge the support of the Lake St-Pierre Fisher Association and the communities of Lake St-Pierre and Abibiti. We would like to thank Donna Legee for her aid in laboratory analysis and Marie-Ève Thibault for her administrative support. This study was supported by the Collaborative Mercury Research Network (COMERN) with funds from the Natural Science and Engineering Research Council (NSERC) of Canada.

**REFERENCES**

- Abdelouahab N, Vanier C, Baldwin M, Garceau S, Lucotte M, Mergler D. 2008. Ecosystem matters: fish consumption, mercury intake and exposure among fluvial lake fish-eaters. *Sci Total Environ* 407(1):154-164.
- Amenta F, Mignini F, Ricci A, Sabbatini M, Tomassoni D, Tayebati SK. 2001. Age-related changes of dopamine receptors in the rat hippocampus: a light microscope autoradiography study. *Mech Ageing Dev* 122(16):2071-2083.
- Ayotte P, Dewailly E, Lambert GH, Perkins SL, Poon R, Feeley M, et al. 2005. Biomarker measurements in a coastal fish-eating population environmentally exposed to organochlorines. *Environ Health Perspect* 113(10):1318-1324.
- Basu N, Scheuhammer AM, Evans RD, O'Brien M, Chan HM. 2007. Cholinesterase and monoamine oxidase activity in relation to mercury levels in the cerebral cortex of wild river otters. *Hum Exp Toxicol* 26(3):213-220.
- Belsley DA, Kuh E and Welsch RE. 1980. *Regression Diagnostics*, Wiley, New York.
- Bemis JC, Seegal RF. 1999. Polychlorinated biphenyls and methylmercury act synergistically to reduce rat brain dopamine content in vitro. *Environ Health Perspect* 107(11):879-885.
- Bemis JC, Seegal RF.. 2000. Polychlorinated biphenyls and methylmercury alter intracellular calcium concentrations in rat cerebellar granule cells. *Neurotoxicology* 21(6):1123-1134.
- Calabrese EJ. 2003. The maturing of hormesis as a credible dose-response model. *Nonlinearity Biol Toxicol Med* 1(3):319-343.
- Carlson WS, Samueloff S, Taylor W, Wasserman DE. 1979. Instrumentation for measurement of sensory loss in the fingertips. *J Occup Med* 21(4):260-264.
- Carta P, Flore C, Alinovi R, Ibba A, Tocco MG, Aru G, et al. 2003. Sub-clinical neurobehavioral abnormalities associated with low level of mercury exposure through fish consumption. *Neurotoxicology* 24(4-5):617-623.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2005. *Third National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals*. Atlanta (GA). Available: [http:// www.cdc.gov /exposurereport/report.htm](http://www.cdc.gov/exposurereport/report.htm)

- Coccini T, Randine G, Candura SM, Nappi RE, Prockop LD, Manzo L. 2000. Low-level exposure to methylmercury modifies muscarinic cholinergic receptor binding characteristics in rat brain and lymphocytes: physiologic implications and new opportunities in biologic monitoring. *Environ Health Perspect* 108(1):29-33.
- Coccini T, Roda E, Castoldi AF, Goldoni M, Poli D, Bernocchi G, et al. 2007. Perinatal co-exposure to methylmercury and PCB153 or PCB126 in rats alters the cerebral cholinergic muscarinic receptors at weaning and puberty. *Toxicology* 238(1):34-48.
- Covaci A, Schepens P. 2001. Simplified method for determination of organochlorine pollutants in human serum by solid-phase disk extraction and gas chromatography. *Chemosphere* 43(4-7):439-447.
- Diller J, Ben-Yishay Y, Gerstman LJ, Goodkin W, Weinberg J. 1974. Studies in Cognition and Rehabilitation in Hemiplegia, Rehabilitation Monograph No.50. New York Univ. Medical center for Rehabilitation Medicine, New York
- Dirtu AC, Cernat R, Dragan D, Mocanu R, Van Grieken R, Neels H, et al. 2006. Organohalogenated pollutants in human serum from Iassy, Romania and their relation with age and gender. *Environ Int* 32(6):797-803.
- Dolbec J, Mergler D, Sousa Passos CJ, Sousa de Morais S, Lebel J. 2000. Methylmercury exposure affects motor performance of a riverine population of the Tapajos river, Brazilian Amazon. *Int Arch Occup Environ Health* 73(3):195-203.
- Ekino S, Susa M, Ninomiya T, Imamura K, Kitamura T. 2007. Minamata disease revisited: an update on the acute and chronic manifestations of methyl mercury poisoning. *J Neurol Sci* 262(1-2):131-144.
- Faroon O, Jones D, de Rosa C. 2001. Effects of polychlorinated biphenyls on the nervous system. *Toxicol Ind Health* 16(7-8):305-333.
- Fitzgerald EF, Belanger EE, Gomez MI, Cayo M, McCaffrey RJ, Seegal RF, et al. 2008. Polychlorinated Biphenyl Exposure and Neuropsychological Status among Older Residents of Upper Hudson River Communities. *Environmental Health Perspectives* 116(2):209-215.

- Fitzgerald EF, Belanger EE, Gomez MI, Hwang SA, Jansing RL, Hicks HE. 2007. Environmental exposures to polychlorinated biphenyls (PCBs) among older residents of upper Hudson River communities. *Environ Res* 104(3):352-360.
- Fleishman EA. 1954. Dimensional analysis of psychomotor abilities. *J Exp Psychol* 48(6):437-454.
- Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem* 226(1):497-509.
- Fowler CJ, Wiberg A, Orelund L, Marcusson J, Winblad B. 1980. The effect of age on the activity and molecular properties of human brain monoamine oxidase. *J Neural Transm* 49(1-2):1-20.
- Gill US, Schwartz HM, Bigras L. 2002. Results of multiyear international interlaboratory comparison program for mercury in human hair. *Arch Environ Contam Toxicol* 43(4):466-472.
- Golden CJ, Hammeke TA, Purisch AD. 1978. Diagnostic validity of a standardized neuropsychological battery derived from Luria's neuropsychological tests. *J Consult Clin Psychol* 46(6):1258-1265.
- Grandjean P, Weihe P, Burse VW, Needham LL, Storr-Hansen E, Heinzow B, et al. 2001. Neurobehavioral deficits associated with PCB in 7-year-old children prenatally exposed to seafood neurotoxicants. *Neurotoxicol Teratol* 23(4):305-317.
- Haase RF, McCaffrey RJ, Santiago-Rivera AL, Morse GS, Tarbell A. 2009. Evidence of an age-related threshold effect of polychlorinated biphenyls (PCBs) on neuropsychological functioning in a Native American population. *Environ Res* 109(1):73-85.
- Hänninen H, Lindstrom K. 1979. Behavioral test battery for toxicopsychological studies. Helsinki:Institute of Occupational Health.
- Kennedy RS, Dunlap WP. 1990. Assessment of the Vistech contrast sensitivity test for repeated-measures applications. *Optom Vis Sci* 67(4):248-251.
- Knopman DS, Ryberg S. 1989. A verbal memory test with high predictive accuracy for dementia of the Alzheimer type. *Arch Neurol* 46(2):141-145.
- Kosatsky T, Przybysz R, Shatenstein B, Weber JP, Armstrong B. 1999. Fish consumption and contaminant exposure among Montreal-area sportfishers: pilot study. *Environ Res* 80(2 Pt 2):S150-S158.

- Lanthony P. 1978. The desaturated panel D-15. *Doc Ophthalmol* 46(1):185-189.
- Lebel J, Mergler D, Branches F, Lucotte M, Amorim M, Larribe F, et al. 1998. Neurotoxic effects of low-level methylmercury contamination in the Amazonian Basin. *Environ Res* 79(1):20-32.
- Lee DW, Opanashuk LA. 2004. Polychlorinated biphenyl mixture aroclor 1254-induced oxidative stress plays a role in dopaminergic cell injury. *Neurotoxicology* 25(6):925-939.
- Lezak MD. 2004. *Neuropsychological assessment*. Oxford New York,:Oxford University Press ;.
- Lin KC, Guo NW, Tsai PC, Yang CY, Guo YL. 2008. Neurocognitive changes among elderly exposed to PCBs/PCDFs in Taiwan. *Environ Health Perspect* 116(2):184-189.
- Mahaffey KR, Clickner RP, Jeffries RA. 2008. Methylmercury and omega-3 fatty acids: co-occurrence of dietary sources with emphasis on fish and shellfish. *Environ Res* 107(1):20-29.
- Nichols BR, Hentz KL, Aylward L, Hays SM, Lamb JC. 2007. Age-specific reference ranges for polychlorinated biphenyls (PCB) based on the NHANES 2001-2002 survey. *J Toxicol Environ Health A* 70(21):1873-1877.
- Oken E, Bellinger DC. 2008. Fish consumption, methylmercury and child neurodevelopment. *Curr Opin Pediatr* 20(2):178-183.
- Oken E, Radesky JS, Wright RO, Bellinger DC, Amarasiriwardena CJ, Kleinman KP, et al. 2008. Maternal fish intake during pregnancy, blood mercury levels, and child cognition at age 3 years in a US cohort. *Am J Epidemiol* 167(10):1171-1181.
- Peper M, Klett M, Morgenstern R. 2005. Neuropsychological effects of chronic low-dose exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs): a cross-sectional study. *Environ Health* 4:22.
- Philibert A, Vanier C, Abdelouahab N, Chan HM, Mergler D. 2006. Fish intake and serum fatty acid profiles from freshwater fish. *Am J Clin Nutr* 84(6):1299-1307.

- Phillips DL, Pirkle JL, Burse VW, Bernert JT, Jr., Henderson LO, Needham LL. 1989. Chlorinated hydrocarbon levels in human serum: effects of fasting and feeding. *Arch Environ Contam Toxicol* 18(4):495-500.
- Proust-Lima C, Amieva H, Letenneur L, Orgogozo JM, Jacqmin-Gadda H, Dartigues JF. 2008. Gender and education impact on brain aging: a general cognitive factor approach. *Psychol Aging* 23(3):608-620.
- Reitan RM. 1958. Validity of the Trail Making Test as an indication of organic brain damage. *Percept, Motor Skills* 8:271-276.
- Roegge CS, Morris JR, Villareal S, Wang VC, Powers BE, Klintsova AY, et al. 2006. Purkinje cell and cerebellar effects following developmental exposure to PCBs and/or MeHg. *Neurotoxicol Teratol* 28(1):74-85.
- Roegge CS, Schantz SL. 2006. Motor function following developmental exposure to PCBs and/or MEHG. *Neurotoxicol Teratol* 28(2):260-277.
- Roegge CS, Wang VC, Powers BE, Klintsova AY, Villareal S, Greenough WT, et al. 2004. Motor impairment in rats exposed to PCBs and methylmercury during early development. *Toxicol Sci* 77(2):315-324.
- SAS Institute Inc. 1999. SAS/STAT User's Guide, version 8:Cary, NC.
- Schantz SL, Gardiner JC, Gasior DM, Sweeney AM, Humphrey HE, McCaffrey RJ. 1999. Motor function in aging Great Lakes fisheaters. *Environ Res* 80(2 Pt 2):S46-S56.
- Schantz SL, Gasior DM, Polverejan E, McCaffrey RJ, Sweeney AM, Humphrey HE, et al. 2001. Impairments of memory and learning in older adults exposed to polychlorinated biphenyls via consumption of Great Lakes fish. *Environ Health Perspect* 109(6):605-611.
- Schantz SL, Widholm JJ. 2001. Cognitive effects of endocrine-disrupting chemicals in animals. *Environ Health Perspect* 109(12):1197-1206.
- Seegal RF. 1994. The neurochemical effects of PCB exposure are age-dependent. *Arch Toxicol Suppl* 16:128-137.
- Seegal RF. 1996. Epidemiological and laboratory evidence of PCB-induced neurotoxicity. *Crit Rev Toxicol* 26(6):709-737.

- Seegal RF, Bush B, Brosch KO. 1991. Sub-chronic exposure of the adult rat to Aroclor 1254 yields regionally-specific changes in central dopaminergic function. *Neurotoxicology* 12(1):55-65.
- Seegal RF, Bush B, Brosch KO.. 1994. Decreases in dopamine concentrations in adult, non-human primate brain persist following removal from polychlorinated biphenyls. *Toxicology* 86(1-2):71-87.
- Simpkins JW, Millard WJ. 1987. Influence of age on neurotransmitter function. *Endocrinol Metab Clin North Am* 16(4):893-917.
- Smith A. 1968. The symbol-digit modalities test: a neuropsychologic test of learning and other cerebral disorders. In: *Learning disorders* (Helmuth J, ed). Seattle Special Child Publications, 83-91.
- Sperry WM, Brand FC. 1955. The determination of total lipides in blood serum. *J Biol Chem* 213(1):69-76.
- Statistique Canada. Projection démographique .<http://www.statcan.gc.ca/pub/91-520-x/00105/4095095-fra.htm>
- Stewart PW, Reihman J, Lonky EI, Darvill TJ, Pagano J. 2003. Cognitive development in preschool children prenatally exposed to PCBs and MeHg. *Neurotoxicol Teratol* 25(1):11-22.
- Volkow ND, Gur RC, Wang GJ, Fowler JS, Moberg PJ, Ding YS, et al. 1998. Association between decline in brain dopamine activity with age and cognitive and motor impairment in healthy individuals. *Am J Psychiatry* 155(3):344-349.
- Weil M, Bressler J, Parsons P, Bolla K, Glass T, Schwartz B. 2005. Blood mercury levels and neurobehavioral function. *Jama* 293(15):1875-1882.
- Weiss B. 2000. Vulnerability to pesticide neurotoxicity is a lifetime issue. *Neurotoxicology* 21(1-2):67-73.
- Weschler D. 1981. *WAIS-R Manual: Weschler Adult Intelligence Scale, Revised Edition*. New York, USA:The Psychological Corporation.
- Yokoo EM, Valente JG, Grattan L, Schmidt SL, Platt I, Silbergeld EK. 2003. Low level methylmercury exposure affects neuropsychological function in adults. *Environ Health* 2(1):8.

## Discussion

Nos travaux constituent une contribution aux connaissances sur les effets à long terme de l'exposition à de faibles doses de mercure et des organochlorés chez les adultes consommateurs de poisson.

La présente étude était partie intégrante du projet COMERN (*Collaborative Mercury Research Network*), un réseau pancanadien de recherche sur le mercure. Ce réseau a intégré l'approche écosystémique afin d'étudier les sources de mercure, sa transmission dans les écosystèmes et ses impacts sur la santé humaine, pour proposer des solutions à court, à moyen et à long terme. L'application de cette approche et l'utilisation du même protocole de recherche au sein des deux communautés du sud et du nord du Québec nous a permis de montrer de manière très claire l'importance de l'impact de l'écosystème sur l'apport et l'exposition au Hg.

Paradoxalement, nos résultats ont montré que les consommateurs de poisson de l'Abitibi consommaient moins de poisson que ceux du LSP mais avaient des niveaux de Hg dans le sang et les cheveux plus élevés. Ce dilemme n'a pu être résolu qu'après avoir fait l'estimation de l'apport en Hg par l'intégration des données du Hg dans les différentes espèces de poisson échantillonnées dans les deux écosystèmes. Les résultats ont montré que l'apport en Hg des participants de l'Abitibi était supérieur à celui des participants du LSP et ce malgré leur faible consommation de poisson. Cette disparité entre les deux communautés peut être expliquée par la différence entre les deux écosystèmes incluant (1) la plus grande biodiversité des espèces de poisson au LSP offrant ainsi un plus grand choix de consommation et (2) une différence dans les niveaux de Hg des espèces de poisson entre les deux régions. En effet, en raison du ralentissement du taux de croissance des poissons des lacs de l'Abitibi, une concentration en Hg similaire à celle des recommandations de Santé Canada (0,5 ug Hg/g de poisson) serait atteinte par un doré de 400 mm, des lacs de



l'Abitibi et d'un doré de 625mm du lac Saint-Pierre du fleuve Saint-Laurent (Simoneau et al., 2005).

De nombreuses études ont utilisé la quantité de poisson, souvent exprimée en nombre de repas, comme indicateur d'apport du MeHg pour étudier la relation entre la consommation de poissons et l'exposition au Hg, (Duchesne et al., 2004; Kosatsky et al., 2000; Mahaffey et al., 2004; Morrissette et al., 2004). Toutefois, nos résultats ont montré que l'estimation de l'apport en Hg représenterait un meilleur biomarqueur d'exposition au Hg. Pour les deux groupes, l'estimation de l'apport en Hg a montré une meilleure corrélation avec le Hg dans le sang et dans les cheveux comparativement à la consommation de poisson recueillie via les questionnaires et que nous avons exprimée en nombre de repas et en quantité de poissons consommée par jour.

L'étroite collaboration avec les groupes de recherche en environnement et en éducation ainsi qu'avec les autorités locales, nous a permis de focaliser nos efforts communs pour trouver un moyen souple et concret d'agir auprès des communautés afin de réduire leur exposition au Hg. Cet effort commun nous a permis d'intervenir auprès des communautés participantes et de leur expliquer, lors de rencontres organisées avec eux, le bilan de leur consommation de poisson et l'impact observé sur leur santé. Nous avons discuté avec eux quand à la pratique d'une consommation responsable des poissons de pêche sportive afin de maximiser les bienfaits tout en minimisant les risques qui lui sont liés. Toutefois, en raison des différences entre les communautés, une sensibilisation adaptée à chacune d'elles était essentielle.

En collaborant avec nos collègues des groupes de recherche en environnement et en éducation, nous avons, grâce aux résultats de cette étude, contribué à la rédaction du carnet de pêcheurs pour la région du LSP. Finalement, afin de sensibiliser les générations futures à la problématique du Hg, nous avons organisé de

nombreuses rencontres ainsi que des séances d'initiation à la recherche aux élèves du CEGEP de Sorel. Avec eux, nous avons pratiqué l'ensemble des tests neuropsychomoteurs et les protocoles de laboratoire utilisés pour de cette étude.

En ce qui concerne les effets des polluants sur la santé des consommateurs de poisson nous avons, en premier lieu, dosé les hormones thyroïdiennes et examiné la relation avec les niveaux de mercure, de plomb et de BPC. Nos observations indiquent que les contaminants environnementaux, même à de faibles doses, peuvent interférer avec la fonction thyroïdienne. Il est vrai que pour l'ensemble des participants, les niveaux des hormones thyroïdiennes sont dans les limites cliniques normales, ce qui nous laisse penser que les effets observés n'outrepassent pas, pour le moment, les mécanismes d'autorégulation de cette glande aux niveaux d'exposition mesurés.

De plus, conformément aux recommandations du groupe de travail sur les méthodologies en évaluation des risques des produits chimiques sur la santé en général et sur le système endocrinien en particulier « *Scientific Group on Methodologies for the Safety Evaluation Chemicals (SGOMSEC)* » (Vahter et al., 2002; Vahter et al., 2006), les effets étudiés doivent être examinés séparément chez les femmes et les hommes du fait des différences biologiques, métaboliques et toxicologiques qui existent entre eux. Nos résultats ont clairement montré que les effets des polluants sur les hormones thyroïdiennes étaient différents entre les hommes et les femmes et que les variables qui influençaient ces effets étaient différentes selon le sexe. Il est donc nécessaire, dans ce type d'étude de non pas stratifier les modèles statistiques, mais de faire des modèles séparés pour les hommes et pour les femmes.

Le mercure et les BPC sont des polluants neurotoxiques. Selon les études expérimentales, le Hg et les BPC pourraient interagir et potentialiser leurs effets sur

le SNC. Cependant, jusqu'à nos jours, on connaît moins bien les conséquences sur la santé des adultes suite à une exposition simultanée, à long terme, à de très faibles doses de Hg et de BPC. Nous avons donc administré aux participants des tests neuropsychomoteurs afin d'explorer les effets conjoints de ces deux polluants, sur les fonctions motrices, cognitives et sensorielles.

Contrairement aux études antérieures ayant noté des altérations des performances neurofonctionnelles différents groupes de grands consommateurs de poissons (Carta et al., 2003; Dolbec et al., 2000; Lebel et al., 1998; Lebel et al., 1996; Mergler et al., 1998; Yokoo et al., 2003), nos résultats démontrent une amélioration des performances de différentes fonctions motrices en relation avec les concentrations de Hg dans les cheveux et dans le sang. A ce jour, une seule étude, réalisée chez la population générale a observé une diminution du temps de réaction associée au Hg sanguin (Weil et al., 2005). Notons que les niveaux du Hg sanguins du groupe de Weil et al. (2005) sont similaires à ceux des groupes de la présente étude.

L'augmentation des performances motrices pourrait être liée aux bienfaits des Omega-3 et du sélénium provenant de la consommation de poisson. Selon différentes études, les oméga-3 (Moreira et al., 2009; Morris, 2009) et le sélénium (Rice, 2008; Whanger, 2001) protégeraient le système nerveux des effets neurotoxiques du MeHg. Dans la présente étude, nous avons mesuré les niveaux des oméga-3 et le sélénium sériques afin d'étudier leurs effets et leur interaction avec le Hg sur les performances neuropsychomotrices. Cependant, nous n'avons observés aucun effet aussi bien des acides gras que du sélénium sur les effets moteurs observés. Il est important de noter que dans ce groupe, les concentrations sériques des oméga-3 et du sélénium étaient relativement basses par rapport à celles rapportées chez d'autres consommateurs de poissons (Philibert et coll., 2006).

Par ailleurs, on pourrait, dans le cas présent, émettre l'hypothèse selon laquelle cette augmentation des performances indiquerait un mécanisme compensatoire qui reflèterait le début des atteintes suite à une exposition à de très faibles doses selon le modèle d'effet «HORMESIS» décrit dans la figure 5-1 (Calabrese, 2003).

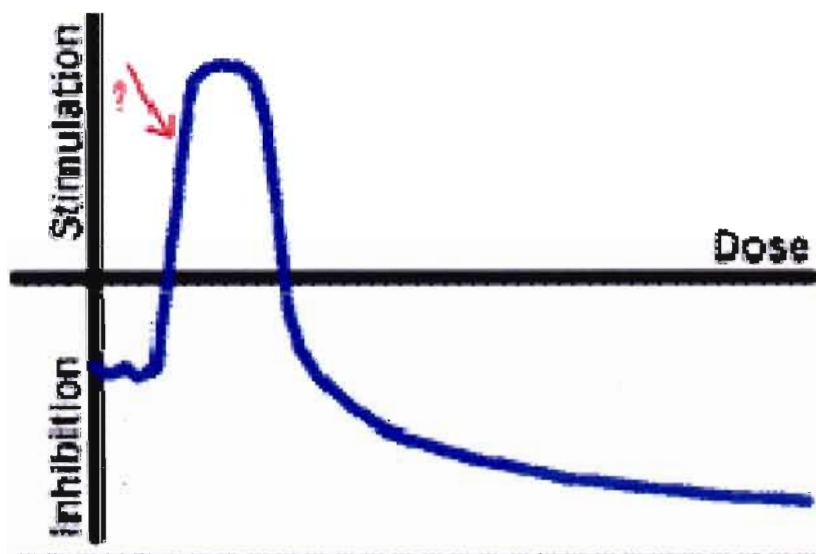


Figure 5-1 Modèle d'effet hormesis illustrant le mécanisme de compensation physiologique. En réponse à une exposition à de faibles concentrations en substances exogènes. Selon le modèle une fois la saturation des mécanismes de réparation conjuguée à l'augmentation des niveaux d'exposition est atteinte, des effets délétères peuvent apparaître (Calabrese, 2003).

Cependant, il est évidemment difficile de dire, dans ce cas, si de telles modifications dans les performances sont prédictives, pour le groupe, de troubles plus prononcés comme le démontre ce modèle. Néanmoins, toutes modifications des fonctions neurologiques est un signe de perturbations fonctionnelles (Mergler et al., 1996), et de ce fait, nous devons considérer cette augmentation des performances comme un effet possiblement délétère de l'exposition au Hg.

Pour une meilleure compréhension de cette énigmatique augmentation des performances motrices, seule une réévaluation de ce groupe de personnes âgées, pourrait nous éclairer sur l'évolution des effets observés. Cette seconde investigation pourrait être jumelée à des études expérimentales avec des niveaux d'exposition similaires à ceux mesurés chez ce groupe. En effet, des études antérieures ont observé chez des rats exposés à de faibles concentrations en MeHg, une augmentation de l'activité des neurotransmetteurs (Coccini et al., 2000) ainsi qu'une stimulation du potentiel électrique neuronale qui régule la libération des neurotransmetteurs (Candura et al., 1997) alors que, dans les deux cas, des effets inverses ont été observés chez les rats exposés à des niveaux plus élevés en MeHg.

Nos résultats ont également montré une diminution des performances cognitives en relation avec les BPC sanguines. Les effets sont, de façon générale, présents et très marqués chez les participants de plus de 50 ans alors que chez les groupes de moins de 50 ans aucun effet n'a été observé. En accord avec nos résultats, des études ultérieures ont également noté des troubles des fonctions neuropsychomotrices chez des sujets âgés de plus de 50 ans exposés au BPC (Fitzgerald et al., 2007; Lin et al., 2008; Schantz et al., 1999; Schantz et al., 2001).

Ces résultats suggèrent que les personnes âgées sont plus vulnérables aux effets neurotoxiques des BPC. Cette vulnérabilité pourrait être liée à deux phénomènes. Premièrement à l'augmentation de la charge corporelle en polluants bioaccumulables (Dirtu et al., 2006; Nichols et al., 2007) et deuxièmement, à la baisse de la capacité des mécanismes de compensation du système nerveux expliquée par la diminution des niveaux de la dopamine et d'autres neurotransmetteurs (Amenta et al., 2001; Fowler et al., 1980; Seegal et al., 1994). Dans les deux cas une catalyse du processus neurodégénératif et un déclin des performances neurofonctionnelles pourraient en être les conséquences (Seegal, 1994).

Les effets observés chez seulement les personnes âgées représentent un constat préoccupant. Dans nos sociétés, l'avancé des sciences de la santé a eu pour conséquence la baisse de la mortalité aux âges les plus avancés. Cette augmentation de l'espérance de vie a entraîné, la modification de la pyramide des âges avec un vieillissement de la population en générale et de la population active en particulier. Selon Statistique Canada (2008), l'âge médian de la population canadienne augmentera de 39 ans en 2005 à un âge entre 43 et 46 ans en 2031 et la proportion de personnes âgées augmenterait au cours des prochaines décennies pour atteindre en moyenne entre 23% et 25% en 2031.

Dans nos sociétés, les aînés par leur expérience et leur savoir continuent de jouer un rôle dynamique dans la vie sociale et économique. Toutefois, la charge corporelle en polluants accumulée durant toute la vie pourrait accroître leur vulnérabilité et leur sensibilité aux maladies. Il est cependant difficile, dans notre cas, de pronostiquer si les altérations neuropsychologiques observées chez le groupe de plus de 50 ans sont prédictives de désordres cliniquement décelables dans le futur.

Sur la base de l'hypothèse d'effets combinés entre les BPC et le Hg sur les performances neurofonctionnelles démontrés par de nombreuses études expérimentales, nous avons émis l'hypothèse selon laquelle les altérations observées seraient aggravées par l'exposition conjointe aux deux polluants neurotoxiques. Cependant, aucune interaction n'a été notée. L'introduction des deux polluants dans le même modèle statistique n'a eu aucun impact ni sur l'effet observé lorsque l'un ou l'autre des polluants était inclus séparément dans le modèle, ni sur la variance expliquée par les modèles.

Globalement les études portant sur ces interactions ont été réalisées en expérimentation avec des niveaux d'exposition élevés, si bien que l'interprétation et l'extrapolation des résultats à l'humain, pour lequel les niveaux d'exposition sont relativement faibles, restent souvent difficiles sinon impossibles. Des études

expérimentales avec des niveaux d'exposition mimant ceux de la population générale seraient intéressantes pour observer réellement les effets combinés du Hg et des BPC.

Chez l'humain, seulement deux études ont investigué l'effet combiné entre ces deux polluants en étudiant les risques neurodéveloppementaux associés avec l'exposition chronique au Hg et aux BPC chez des enfants. Dans les deux cas, les altérations neuropsychomotrices étaient observées chez les groupes avec les niveaux les plus élevés en MeHg pour la cohorte d'enfants des Iles Faraoe (Grandjean et al., 2001) et en BPC pour la cohorte d'enfants d'Oswego (USA) (Stewart et al., 2003). Aucun effet combiné n'a été observé chez les groupes avec les plus faibles concentrations. Les deux études se sont intéressés aux effets chez les enfants exposés in utéro et durant l'allaitement, toutefois il aurait été intéressant d'investiguer les effets chez les mères particulièrement pour l'étude de Stewart et al. (2003) pour laquelle les niveaux d'exposition aux BPC étaient représentatifs de ceux de la population générale des États-Unis.

Chaque année plus de 3000 nouvelles substances chimiques sont mises sur le marché (EPA, 2009). L'humain est donc exposé à un mélange de substances exogènes dont de potentiels nouveaux polluants. Il est déjà documenté que certains polluants émergents interagissent avec les BPC et augmentent leur neurotoxicité et que les effets neurologiques observés s'aggravent à l'âge adulte (Eriksson et al., 2006). De ce fait, il est important lors de l'évaluation des risques toxicologiques d'étudier les interactions entre les polluants et surtout de mettre l'emphase sur les faibles doses car, à ce jour de nombreuses questions restent à explorer afin de mieux comprendre ces phénomènes et ainsi identifier et mettre en place les meilleures stratégies de prévention.

## CONCLUSION

En conclusion nous pensons que, sur le plan de santé publique, nos observations constituent un constat préoccupant. En premier lieu, nos résultats démontrent que malgré les niveaux d'expositions relativement plus bas en comparaison avec d'autres populations, des effets sur la santé ont été observés. L'accélération et l'intensification de la détérioration physiologique notamment par les polluants neurotoxiques et les perturbateurs endocriniens entraîneront pour la société, une augmentation des coûts des soins de santé. Il est donc impératif que la recherche met en perspective tous les moyens pour mieux connaître et cerner les risques en lien avec la pollution environnementale afin de prévenir tout effets délétères sur la santé et de permettre ainsi à la population de vieillir en santé.



## Bibliographie

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 1999. Toxicological profile for mercury. Atlanta, GA. US Department of Health and Human Services, Public Health Service. Disponible: [www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp46.html](http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp46.html)
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 2000. Toxicological profile for PCB. Atlanta, GA. US Department of Health and Human Services, Public Health Service. disponible: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp17-c5.pdf>
- Allan, R.J. 1996. Long-range atmospheric transport of heavy metals, particularly mercury in Canada: Sources, Fate and Effects. INRE, Contribution 96-80.
- Amenta F, Mignini F, Ricci A, Sabbatini M, Tomassoni D, Tayebati SK. 2001. Age-related changes of dopamine receptors in the rat hippocampus: a light microscope autoradiography study. *Mech Ageing Dev* 122(16):2071-2083.
- Anger WK. 1990. Worksite behavioral research. Results, sensitive methods, test batteries and the transition from laboratory data to human health. *Neurotoxicology* 11(4):627-717.
- Angus WG, Contreras ML. 1996. Effects of polychlorinated biphenyls on dopamine release from PC12 cells. *Toxicol Lett* 89(3):191-199.
- Aschner M, Aschner JL. 1990. Mercury neurotoxicity: mechanisms of blood-brain barrier transport. *Neurosci Biobehav Rev* 14(2):169-176.
- Bakir F, Damluji SF, Amin-Zaki L, Murtadha M, Khalidi A, al-Rawi NY, et al. 1973. Methylmercury poisoning in Iraq. *Science* 181(96):230-241.
- Ballatori N, Shi C, Boyer JL. 1988. Altered plasma membrane ion permeability in mercury-induced cell injury: studies in hepatocytes of elasmobranch *Raja erinacea*. *Toxicol Appl Pharmacol* 95(2):279-291.
- Barter RA, Klaassen CD. 1994. Reduction of thyroid hormone levels and alteration of thyroid function by four representative UDP-glucuronosyltransferase inducers in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 128(1):9-17.
- Beard J. 2006. DDT and human health. *Sci Total Environ* 355(1-3):78-89.

- Bemis JC, Seegal RF. 1999. Polychlorinated biphenyls and methylmercury act synergistically to reduce rat brain dopamine content in vitro. *Environ Health Perspect* 107(11):879-885.
- Bemis JC, Seegal RF. 2000. Polychlorinated biphenyls and methylmercury alter intracellular calcium concentrations in rat cerebellar granule cells. *Neurotoxicology* 21(6):1123-1134.
- Bemis JC, Seegal RF. 2004. PCB-induced inhibition of the vesicular monoamine transporter predicts reductions in synaptosomal dopamine content. *Toxicol Sci* 80(2):288-295.
- Bernadette A. Taking stock: A profile of Canada's aquaculture industry. 2005. Available: <http://www.statcan.ca/bsolc/english/bsolc?catno=21-004-X20050058671>
- Beuter A, de Geoffroy A, Edwards R. 1999. Quantitative analysis of rapid pointing movements in Cree subjects exposed to mercury and in subjects with neurological deficits. *Environ Res* 80(1):50-63.
- Beuter A, Edwards R. 1998. Tremor in Cree subjects exposed to methylmercury: a preliminary study. *Neurotoxicol Teratol* 20(6):581-589.
- Beuter A, Edwards R. 2004. Effect of chronic exposure to methylmercury on eye movements in Cree subjects. *Int Arch Occup Environ Health* 77(2):97-107.
- Beyer A, Biziuk M. 2009. Environmental fate and global distribution of polychlorinated biphenyls. *Rev Environ Contam Toxicol* 201:137-158.
- Birke G, Johnels AG, Plantin LO, Sjostrand B, Skerfving S, Westermark T. 1972. Studies on humans exposed to methyl mercury through fish consumption. *Arch Environ Health* 25(2):77-91.
- Boas M, Feldt-Rasmussen U, Skakkebaek NE, Main KM. 2006. Environmental chemicals and thyroid function. *Eur J Endocrinol* 154(5):599-611.
- Bondy SC, Komulainen H. 1988. Intracellular calcium as an index of neurotoxic damage. *Toxicology* 49(1):35-41.
- Bosetti C, Negri E, Fattore E, La Vecchia C. 2003. Occupational exposure to polychlorinated biphenyls and cancer risk. *Eur J Cancer Prev* 12(4):251-255.

- Boucher O, Muckle G, Bastien CH. 2009. Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls: a neuropsychologic analysis. *Environ Health Perspect* 117(1):7-16.
- Bowman KJ. 1982. A method for quantitative scoring of the Farnsworth Panel D-15. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 60(6):907-916.
- Braune BM, Malone BJ. 2006. Organochlorines and mercury in waterfowl harvested in Canada. *Environ Monit Assess* 114(1-3):331-359.
- Braune BM, Noble DG. 2009. Environmental contaminants in Canadian shorebirds. *Environ Monit Assess* 148(1-4):185-204.
- Brookes N, Kristt DA. 1989. Inhibition of amino acid transport and protein synthesis by HgCl<sub>2</sub> and methylmercury in astrocytes: selectivity and reversibility. *J Neurochem* 53(4):1228-1237.
- Brouwer A, Morse DC, Lans MC, Schuur AG, Murk AJ, Klasson-Wehler E, et al. 1998. Interactions of persistent environmental organohalogenes with the thyroid hormone system: mechanisms and possible consequences for animal and human health. *Toxicol Ind Health* 14(1-2):59-84.
- Brown JF, Jr., Lawton RW. 1984. Polychlorinated biphenyl (PCB) partitioning between adipose tissue and serum. *Bull Environ Contam Toxicol* 33(3):277-280.
- Brown JF, Jr., Lawton RW, Morgan CB. 1994. PCB metabolism, persistence, and health effects after occupational exposure: implications for risk assessment. *Chemosphere* 29(9-11):2287-2294.
- Brownawell AM, Berent S, Brent RL, Bruckner JV, Doull J, Gershwin EM, et al. 2005. The potential adverse health effects of dental amalgam. *Toxicol Rev* 24(1):1-10.
- Brubaker PE, Klein R, Herman SP, Lucier GW, Alexander LT, Long MD. 1973. DNA, RNA, and protein synthesis in brain, liver, and kidneys of asymptomatic methylmercury treated rats. *Exp Mol Pathol* 18(3):263-280.
- Candura SM, D'Agostino G, Castoldi AF, Messori E, Liuzzi M, Manzo L, et al. 1997. Effects of mercuric chloride and methyl mercury on cholinergic neuromuscular transmission in the guinea-pig ileum. *Pharmacol Toxicol* 80(5):218-224.

- Carrier, G. (1986). Les BPC - Toxicité des BPC, de leurs contaminants et de leurs produits de combustion chez les êtres vivants et persistance des BPC dans l'environnement (No. ISBN 2-550-16298-6): Hydro-Québec.
- Carlson WS, Samueloff S, Taylor W, Wasserman DE. 1979. Instrumentation for measurement of sensory loss in the fingertips. *J Occup Med* 21(4):260-264.
- Carpenter DO. 2006. Polychlorinated biphenyls (PCBs): routes of exposure and effects on human health. *Rev Environ Health* 21(1):1-23.
- Carta P, Flore C, Alinovi R, Ibba A, Tocco MG, Aru G, et al. 2003. Sub-clinical neurobehavioral abnormalities associated with low level of mercury exposure through fish consumption. *Neurotoxicology* 24(4-5):617-623.
- Castoldi AF, Johansson C, Onishchenko N, Coccini T, Roda E, Vahter M, et al. 2008. Human developmental neurotoxicity of methylmercury: impact of variables and risk modifiers. *Regul Toxicol Pharmacol* 51(2):201-214.
- Cernichiari E, Brewer R, Myers GJ, Marsh DO, Lapham LW, Cox C, et al. 1995. Monitoring methylmercury during pregnancy: maternal hair predicts fetal brain exposure. *Neurotoxicology* 16(4):705-710.
- Cernichiari E, Toribara TY, Liang L, Marsh DO, Berlin MW, Myers GJ, et al. 1995. The biological monitoring of mercury in the Seychelles study. *Neurotoxicology* 16(4):613-628.
- Chan HM, Trifonopoulos M, Ing A, Receveur O, Johnson E. 1999. Consumption of freshwater fish in Kahnawake: risks and benefits. *Environ Res* 80(2 Pt 2):S213-S222.
- Chang LW, Reuhl KR, Spyker JM. 1977. Ultrastructural study of the latent effects of methyl mercury on the nervous system after prenatal exposure. *Environ Res* 13(2):171-185.
- Cheek AO, Kow K, Chen J, McLachlan JA. 1999. Potential mechanisms of thyroid disruption in humans: interaction of organochlorine compounds with thyroid receptor, transthyretin, and thyroid-binding globulin. *Environ Health Perspect* 107(4):273-278.
- Chen G, Bunce NJ. 2004. Interaction between halogenated aromatic compounds in the Ah receptor signal transduction pathway. *Environ Toxicol* 19(5):480-489.

- Cheng J, Yang Y, Ma J, Wang W, Liu X, Sakamoto M, et al. 2009. Assessing noxious effects of dietary exposure to methylmercury, PCBs and Se coexisting in environmentally contaminated rice in male mice. *Environ Int* 35(3):619-625.
- Chia LG, Chu FL. 1985. A clinical and electrophysiological study of patients with polychlorinated biphenyl poisoning. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 48(9):894-901.
- Choi BH, Lapham LW, Amin-Zaki L, Saleem T. 1978. Abnormal neuronal migration, deranged cerebral cortical organization, and diffuse white matter astrocytosis of human fetal brain: a major effect of methylmercury poisoning in utero. *J Neuropathol Exp Neurol* 37(6):719-733.
- Clarkson TW. 1997. The toxicology of mercury. *Crit Rev Clin Lab Sci* 34(4):369-403.
- Clarkson TW. 2002. The three modern faces of mercury. *Environ Health Perspect* 110 Suppl 1:11-23.
- Clarkson TW, Magos L. 2006. The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Crit Rev Toxicol* 36(8):609-662.
- Clarkson TW, Vyas JB, Ballatori N. 2007. Mechanisms of mercury disposition in the body. *Am J Ind Med* 50(10):757-764.
- Coccini T, Randine G, Candura SM, Nappi RE, Prockop LD, Manzo L. 2000. Low-level exposure to methylmercury modifies muscarinic cholinergic receptor binding characteristics in rat brain and lymphocytes: physiologic implications and new opportunities in biologic monitoring. *Environ Health Perspect* 108(1):29-33.
- Coccini T, Roda E, Castoldi AF, Goldoni M, Poli D, Bernocchi G, et al. 2007. Perinatal co-exposure to methylmercury and PCB153 or PCB126 in rats alters the cerebral cholinergic muscarinic receptors at weaning and puberty. *Toxicology* 238(1):34-48.
- Collaborative Mercury Research Network (COMERN). Disponible: <http://www.unites.uqam.ca/comern/index.fr.html>
- Comission for Environnental cooperatoin of North America. 2004. Taking stock 2001. North Americain pollutant release and transfert. [http://www.cec.org/files/pdf/POLLUTANTS/TS2001-Report\\_en.pdf](http://www.cec.org/files/pdf/POLLUTANTS/TS2001-Report_en.pdf).

- Commission de coopération environnementale (CCE). 1996. Phase I report: The status of mercury in Canada: A background report to the Commission for Environmental Cooperation. North American Task Force on Mercury.
- Conseil canadien des ministres de l'environnement (CCME). 2003. Document d'information Standards canadiens.  
[http://www.ccme.ca/assets/pdf/mercury\\_emissions\\_back\\_f.pdf](http://www.ccme.ca/assets/pdf/mercury_emissions_back_f.pdf)
- Dabeka R, McKenzie AD, Forsyth DS, Conacher HB. 2004. Survey of total mercury in some edible fish and shellfish species collected in Canada in 2002. *Food Addit Contam* 21(5):434-440.
- Denny MF, Atchison WD. 1994. Methylmercury-induced elevations in intrasynaptosomal zinc concentrations: an <sup>19</sup>F-NMR study. *J Neurochem* 63(1):383-386.
- Despres C, Beuter A, Richer F, Poitras K, Veilleux A, Ayotte P, et al. 2005. Neuromotor functions in Inuit preschool children exposed to Pb, PCBs, and Hg. *Neurotoxicol Teratol* 27(2):245-257.
- Diller J, Ben-Yishay Y, Gerstman LJ, Goodkin W, Weinberg J. 1974. *Studies in Cognition and Rehabilitation in Hemiplegia*, Rehabilitation Monograph No.50. New York Univ. Medical center for Rehabilitation Medicine, New York
- Din JN, Newby DE, Flapan AD. 2004. Omega 3 fatty acids and cardiovascular disease--fishing for a natural treatment. *Bmj* 328(7430):30-35.
- Dirtu AC, Cernat R, Dragan D, Mocanu R, Van Grieken R, Neels H, et al. 2006. Organohalogenated pollutants in human serum from Iassy, Romania and their relation with age and gender. *Environ Int* 32(6):797-803.
- Dolbec J, Mergler D, Larribe F, Roulet M, Lebel J, Lucotte M. 2001. Sequential analysis of hair mercury levels in relation to fish diet of an Amazonian population, Brazil. *Sci Total Environ* 271(1-3):87-97.
- Dolbec J, Mergler D, Sousa Passos CJ, Sousa de Morais S, Lebel J. 2000. Methylmercury exposure affects motor performance of a riverine population of the Tapajos river, Brazilian Amazon. *Int Arch Occup Environ Health* 73(3):195-203.

- Duarte-Davidson R, Jones KC. 1994. Polychlorinated biphenyls (PCBs) in the UK population: estimated intake, exposure and body burden. *Sci Total Environ* 151(2):131-152.
- Duchesne JF, Levesque BB, Gauvin D, Braune B, Gingras S, Dewailly EE. 2004. Estimating the mercury exposure dose in a population of migratory bird hunters in the St. Lawrence River region, Quebec, Canada. *Environ Res* 95(2):207-214.
- Dumont C, Girard M, Bellavance F, Noel F. 1998. Mercury levels in the Cree population of James Bay, Quebec, from 1988 to 1993/94. *Cmaj* 158(11):1439-1445.
- Dutczak WJ, Ballatori N. 1992. gamma-Glutamyltransferase-dependent biliary-hepatic recycling of methyl mercury in the guinea pig. *J Pharmacol Exp Ther* 262(2):619-623.
- Ekino S, Susa M, Ninomiya T, Imamura K, Kitamura T. 2007. Minamata disease revisited: an update on the acute and chronic manifestations of methyl mercury poisoning. *J Neurol Sci* 262(1-2):131-144.
- Environnement Canada. 2007. On doit diminuer le taux de mercure. Disponible: <http://www.ec.gc.ca/scitech/default.asp?lang=Fr&n=4B40916E&xsl=articlesservices,viewfull&po=2F33AB9A>. Consulté le 20 juillet 2009.
- Environnement Canada, 2007. Étude sur les contaminants dans les oiseaux Disponible: [http://www.qc.ec.gc.ca/faune/faune/html/sauvagine\\_contamination.html](http://www.qc.ec.gc.ca/faune/faune/html/sauvagine_contamination.html)
- Environnement Canada, 2004. Gestion des déchets. Les Biphényles polychlorés disponible: <http://www.ec.gc.ca/drgdwrmd/default.asp?lang=Fr&n=75C647A7-0>.
- Environnement Canada, 2004 Le mercure dans l'environnement, le rejet au Canada. Disponible: <http://www.ec.gc.ca/MERCURY/SM/FR/sm-cr.cfm>. Consulté le 9 septembre, 2009
- Environnement Canada, 2000. L'état du mercure au Canada Rapport n° 2. Disponible au : <http://www.ccc.org/files/PDF/POLLUTANTS/HgCan-f5.PDF>
- Environnement Canada 1996. Rapport-Synthèse sur l'état du St-Laurent, Vol. I Écosystème du St-Laurent, Édition Multimondes. Centre St-Laurent, Canada.

- Environmental Protection Agency. 2009. The U.S. Environmental Protection Agency's Strategic Plan for Evaluating the Toxicity of Chemicals. Disponible: [http://www.epa.gov/osa/spc/toxicitytesting/docs/toxtest\\_strategy\\_032309.pdf](http://www.epa.gov/osa/spc/toxicitytesting/docs/toxtest_strategy_032309.pdf)
- Environmental Protection Agency.. Report to Congress (1997) . Mercury Study. Volume III: Fate and Transport of Mercury in the Environment. Office of Air Quality Planning & Standards And Office of Research and Development. Disponible: <http://www.epa.gov/ttn/oarpg/t3/reports/volume3.pdf>
- Eriksson P, Fischer C, Fredriksson A. 2006. Polybrominated diphenyl ethers, a group of brominated flame retardants, can interact with polychlorinated biphenyls in enhancing developmental neurobehavioral defects. *Toxicol Sci* 94(2):302-309.
- Eto K. 1997. Pathology of Minamata disease. *Toxicol Pathol* 25(6):614-623.
- Eto K. 2000. Minamata disease. *Neuropathology* 20 Suppl:S14-19.
- Eto K. 2006. [Minamata disease: a neuropathological viewpoint]. *Seishin Shinkeigaku Zasshi* 108(1):10-23.
- Evans MS, Lockhart WL, Doetzel L, Low G, Muir D, Kidd K, et al. 2005. Elevated mercury concentrations in fish in lakes in the Mackenzie River Basin: the role of physical, chemical, and biological factors. *Sci Total Environ* 351-352:479-500.
- Faroon O, Jones D, de Rosa C. 2001. Effects of polychlorinated biphenyls on the nervous system. *Toxicol Ind Health* 16(7-8):305-333.
- Fischer C, Fredriksson A, Eriksson P. 2008. Neonatal co-exposure to low doses of an ortho-PCB (PCB 153) and methyl mercury exacerbate defective developmental neurobehavior in mice. *Toxicology* 244(2-3):157-165.
- Fisk AT, de Wit CA, Wayland M, Kuzyk ZZ, Burgess N, Letcher R, et al. 2005. An assessment of the toxicological significance of anthropogenic contaminants in Canadian arctic wildlife. *Sci Total Environ* 351-352:57-93.
- Fitzgerald EF, Belanger EE, Gomez MI, Cayo M, McCaffrey RJ, Seegal RF, et al. 2008. Polychlorinated Biphenyl Exposure and Neuropsychological Status among Older Residents of Upper Hudson River Communities. *Environmental Health Perspectives* 116(2):209-215.



- Fitzgerald EF, Belanger EE, Gomez MI, Hwang SA, Jansing RL, Hicks HE. 2007. Environmental exposures to polychlorinated biphenyls (PCBs) among older residents of upper Hudson River communities. *Environ Res* 104(3):352-360.
- Fitzgerald EF, Hwang SA, Langguth K, Cayo M, Yang BZ, Bush B, et al. 2004. Fish consumption and other environmental exposures and their associations with serum PCB concentrations among Mohawk women at Akwesasne. *Environ Res* 94(2):160-170.
- Fleishman EA. 1954. Dimensional analysis of psychomotor abilities. *J Exp Psychol* 48 (6):437-454.
- Forest JC, Masse J, Lane A. 1998. Evaluation of the analytical performance of the Boehringer Mannheim Elecsys 2100 immunoanalyzer. *Clin Biochem* 31(2):81-88.
- Forsyth DS, Casey V, Dabeka RW, McKenzie A. 2004. Methylmercury levels in predatory fish species marketed in Canada. *Food Addit Contam* 21(9):849-856.
- Fowler CJ, Wiberg A, Orelund L, Marcusson J, Winblad B. 1980. The effect of age on the activity and molecular properties of human brain monoamine oxidase. *J Neural Transm* 49(1-2):1-20.
- Franchini M, Rial M, Buiatti E, Bianchi F. 2004. Health effects of exposure to waste incinerator emissions: a review of epidemiological studies. *Ann Ist Super Sanita* 40(1):101-115.
- Ganther HE, Sunde ML. 2007. Factors in fish modifying methylmercury toxicity and metabolism. *Biol Trace Elem Res* 119(3):221-233.
- Gennings C, Carter WH, Jr., Carchman RA, Teuschler LK, Simmons JE, Carney EW. 2005. A unifying concept for assessing toxicological interactions: changes in slope. *Toxicol Sci* 88(2):287-297.
- Giesy JP, Kannan K, Blankenship AL, Jones PD, Hilscherova K. 2000. Dioxin-like and non-dioxin-like toxic effects of polychlorinated biphenyls (PCBs): implications for risk assessment. *Cent Eur J Public Health* 8 Suppl:43-45.
- Gochfeld M, Burger J. 2005. Good fish/bad fish: a composite benefit-risk by dose curve. *Neurotoxicology* 26(4):511-520.
- Golden CJ. 1976. Identification of brain disorders by the Stroop Color and Word Test. *J Clin Psychol* 32(3):654-658.

- Golden R, Kimbrough R. 2009. Weight of evidence evaluation of potential human cancer risks from exposure to polychlorinated biphenyls: an update based on studies published since 2003. *Crit Rev Toxicol* 39(4):299-331.
- Goldey ES, Kehn LS, Lau C, Rehnberg GL, Crofton KM. 1995. Developmental exposure to polychlorinated biphenyls (Aroclor 1254) reduces circulating thyroid hormone concentrations and causes hearing deficits in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 135(1):77-88.
- Gould JC, Cooper KR, Scanes CG. 1999. Effects of polychlorinated biphenyls on thyroid hormones and liver type I monodeiodinase in the chick embryo. *Ecotoxicol Environ Saf* 43(2):195-203.
- Grandjean P, Weihe P, Burse VW, Needham LL, Storr-Hansen E, Heinzow B, et al. 2001. Neurobehavioral deficits associated with PCB in 7-year-old children prenatally exposed to seafood neurotoxins. *Neurotoxicol Teratol* 23(4):305-317.
- Grandjean, P., Weihe, P., White, R. F., Debes, F., Araki, S., Yokoyama, K., Murata, K., Sorensen, N., Dahl, R. and Jorgensen, P. J., 1997. Cognitive deficit in 7-year-old children with prenatal exposure to methylmercury. *Neurotoxicol Teratol.* 19, 417-428.
- Gruenewald DM, Hassanzadeh P, Bergman A, Noren K. 2002. Metabolites of polychlorinated biphenyls in human liver and adipose tissue. *Environ Toxicol Chem* 21(11):2264-2269.
- Haase RF, McCaffrey RJ, Santiago-Rivera AL, Morse GS, Tarbell A. 2009. Evidence of an age-related threshold effect of polychlorinated biphenyls (PCBs) on neuropsychological functioning in a Native American population. *Environ Res* 109(1):73-85.
- Halbach S, Clarkson TW. 1978. Enzymatic oxidation of mercury vapor by erythrocytes. *Biochim Biophys Acta* 523(2):522-531.
- Hänninen H, Lindstrom K. 1979. Behavioral test battery for toxicopsychological studies. Helsinki:Institute of Occupational Health.
- Harris HH, Pickering IJ, George GN. 2003. The chemical form of mercury in fish. *Science* 301(5637):1203.

- Hasegawa K, Omata S, Sugano H. 1988. In vivo and in vitro effects of methylmercury on the activities of aminoacyl-tRNA synthetases in rat brain. *Arch Toxicol* 62(6):470-472.
- Hirota Y, Hirohata T, Kataoka K, Shinohara S. 1995. Blood polychlorinated biphenyls and manifestation of symptoms in chronic "Yusho" patients. *Fukuoka Igaku Zasshi* 86(5):247-255.
- Holene E, Nafstad I, Skaare JU, Sagvolden T. 1998. Behavioural hyperactivity in rats following postnatal exposure to sub-toxic doses of polychlorinated biphenyl congeners 153 and 126. *Behav Brain Res* 94(1):213-224.
- Honma T, Suda M, Miyagawa M, Wang RS, Kobayashi K, Sekiguchi S. 2009. Alteration of brain neurotransmitters in female rat offspring induced by prenatal administration of 16 and 64 mg/kg of 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (PCB153). *Ind Health* 47(1):11-21.
- Hung H, Blanchard P, Halsall CJ, Bidleman TF, Stern GA, Fellin P, et al. 2005. Temporal and spatial variabilities of atmospheric polychlorinated biphenyls (PCBs), organochlorine (OC) pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the Canadian Arctic: results from a decade of monitoring. *Sci Total Environ* 342(1-3):119-144.
- Hursh JB, Cherian MG, Clarkson TW, Vostal JJ, Mallie RV. 1976. Clearance of mercury (HG-197, HG-203) vapor inhaled by human subjects. *Arch Environ Health* 31(6):302-309.
- Huwe JK, Larsen GL. 2005. Polychlorinated dioxins, furans, and biphenyls, and polybrominated diphenyl ethers in a U.S. meat market basket and estimates of dietary intake. *Environ Sci Technol* 39(15):5606-5611.
- Ikingura JR, Akagi H. 2003. Total mercury and methylmercury levels in fish from hydroelectric reservoirs in Tanzania. *Sci Total Environ* 304(1-3):355-368.
- Inglefield JR, Mundy WR, Shafer TJ. 2001. Inositol 1,4,5-triphosphate receptor-sensitive Ca(2+) release, store-operated Ca(2+) entry, and cAMP responsive element binding protein phosphorylation in developing cortical cells following exposure to polychlorinated biphenyls. *J Pharmacol Exp Ther* 297(2):762-773.
- Inskip MJ, Piotrowski JK. 1985. Review of the health effects of methylmercury. *J Appl Toxicol* 5(3):113-133.

- Iwasaki T, Miyazaki W, Takeshita A, Kuroda Y, Koibuchi N. 2002. Polychlorinated biphenyls suppress thyroid hormone-induced transactivation. *Biochem Biophys Res Commun* 299(3):384-388.
- Jacobs JM, Carmichael N, Cavanagh JB. 1977. Ultrastructural changes in the nervous system of rabbits poisoned with methyl mercury. *Toxicol Appl Pharmacol* 39(2):249-261.
- Jensen S, Jernelov A. 1969. Biological methylation of mercury in aquatic organisms. *Nature* 223(5207):753-754.
- Jensen S, Johnels AG, Olsson M, Otterlind G. 1969. DDT and PCB in marine animals from Swedish waters. *Nature* 224(5216):247-250.
- Johnsson C, Schutz A, Sallsten G. 2005. Impact of consumption of freshwater fish on mercury levels in hair, blood, urine, and alveolar air. *J Toxicol Environ Health A* 68(2):129-140.
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). 2003. Summary and conclusions of the sixty-first meeting on food additives, Rome. Disponible: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/jecfa/jecfa61sc.pdf>.
- Jorissen J. 2007. Literature review. Outcomes associated with postnatal exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs) via breast milk. *Adv Neonatal Care* 7(5):230-237.
- Katz SA, Katz RB. 1992. Use of hair analysis for evaluating mercury intoxication of the human body: a review. *J Appl Toxicol* 12(2):79-84.
- Kazantzis G. 2002. Mercury exposure and early effects: an overview. *Med Lav* 93(3):139-147.
- Kazantzis G, Al-Mufti AW, Copplestone JF, Majid MA, Mahmoud RM. 1976. Epidemiology of organomercury poisoning in Iraq. III. Clinical features and their changes with time. *Bull World Health Organ* 53 suppl:49-57.
- Kehrig Hdo A, Howard BM, Malm O. 2008. Methylmercury in a predatory fish (*Cichla* spp.) inhabiting the Brazilian Amazon. *Environ Pollut* 154(1):68-76.
- Kelly H, Riddell MA, Gidding HF, Nolan T, Gilbert GL. 2002. A random cluster survey and a convenience sample give comparable estimates of immunity to vaccine preventable diseases in children of school age in Victoria, Australia. *Vaccine* 20(25-26):3130-3136.

- Kennedy RS, Dunlap WP. 1990. Assessment of the Vistech contrast sensitivity test for repeated-measures applications. *Optom Vis Sci* 67(4):248-251.
- Kerper LE, Ballatori N, Clarkson TW. 1992. Methylmercury transport across the blood-brain barrier by an amino acid carrier. *Am J Physiol* 262(5 Pt 2):R761-765.
- Kershaw TG, Clarkson TW, Dhahir PH. 1980. The relationship between blood levels and dose of methylmercury in man. *Arch Environ Health* 35(1):28-36.
- Klove H. 1963. Clinical Neuropsychology. *Med Clin North Am* 47:1647-1658.
- Knopman DS, Ryberg S. 1989. A verbal memory test with high predictive accuracy for dementia of the Alzheimer type. *Arch Neurol* 46(2):141-145.
- Korogi Y, Takahashi M, Okajima T, Eto K. 1998. MR findings of Minamata disease-organic mercury poisoning. *J Magn Reson Imaging* 8(2):308-316.
- Korogi Y, Takahashi M, Shinzato J, Okajima T. 1994. MR findings in seven patients with organic mercury poisoning (Minamata disease). *AJNR Am J Neuroradiol* 15(8):1575-1578.
- Kosatsky T, Przybysz R, Armstrong B. 2000. Mercury exposure in Montrealers who eat St. Lawrence River sportfish. *Environ Res* 84(1):36-43.
- Kosatsky T, Przybysz R, Shatenstein B, Weber JP, Armstrong B. 1999. Fish consumption and contaminant exposure among Montreal-area sportfishers: pilot study. *Environ Res* 80(2 Pt 2):S150-S158.
- Kozak S, Forsberg CW. 1979. Transformation of mercuric chloride and methylmercury by the rumen microflora. *Appl Environ Microbiol* 38(4):626-636.
- Kunimoto M, Suzuki T. 1997. Migration of granule neurons in cerebellar organotypic cultures is impaired by methylmercury. *Neurosci Lett* 226(3):183-186.
- Kunita N, Hori S, Obana H, Otake T, Nishimura H, Kashimoto T, et al. 1985. Biological effect of PCBs, PCQs and PCDFs present in the oil causing yusho and yu-cheng. *Environ Health Perspect* 59:79-84.
- Laliberté D. 2004. Évolution des teneurs en Mercure et en BPC de quatre espèces de poissons du Saint-Laurent. Disponible:

[http://www.menv.gouv.qc.ca/eau/eco\\_aqua/fleuve/4esp-poissons/St-laurent-4esp-poissons.pd](http://www.menv.gouv.qc.ca/eau/eco_aqua/fleuve/4esp-poissons/St-laurent-4esp-poissons.pd). consulté en janvier 2008.

- Langer P. 2008. Persistent organochlorinated pollutants (PCB, DDE, HCB, dioxins, furans) and the thyroid--review 2008. *Endocr Regul* 42(2-3):79-104.
- Lanthony P. 1978. The desaturated panel D-15. *Doc Ophthalmol* 46(1):185-189.
- Lebel J, Mergler D, Branches F, Lucotte M, Amorim M, Larribe F, et al. 1998. Neurotoxic effects of low-level methylmercury contamination in the Amazonian Basin. *Environ Res* 79(1):20-32.
- Lebel J, Mergler D, Lucotte M, Amorim M, Dolbec J, Miranda D, et al. 1996. Evidence of early nervous system dysfunction in Amazonian populations exposed to low-levels of methylmercury. *Neurotoxicology* 17(1):157-167.
- Legrand M, Arp P, Ritchie C, Chan HM. 2005. Mercury exposure in two coastal communities of the Bay of Fundy, Canada. *Environ Res* 98(1):14-21.
- Lezak, 1995, *Neuropsychological assessment* (3rd ed.), Oxford University Press, New York (1995).
- Lezak MD. 2004. *Neuropsychological assessment*. Oxford New York,;Oxford University Press.
- Lilienthal H, Winneke G. 1991. Sensitive periods for behavioral toxicity of polychlorinated biphenyls: determination by cross-fostering in rats. *Fundam Appl Toxicol* 17(2):368-375.
- Lin KC, Guo NW, Tsai PC, Yang CY, Guo YL. 2008. Neurocognitive changes among elderly exposed to PCBs/PCDFs in Taiwan. *Environ Health Perspect* 116(2):184-189.
- Lockhart WL, Stern GA, Low G, Hendzel M, Boila G, Roach P, et al. 2005. A history of total mercury in edible muscle of fish from lakes in northern Canada. *Sci Total Environ* 351-352:427-463.
- Lotti M. 2003. Pharmacokinetics and blood levels of polychlorinated biphenyls. *Toxicol Rev* 22(4):203-215.
- Lucier GW, Matthews HB, Brubaker PE, Klein R, McDaniel OS. 1973. Effects of methylmercury on microsomal mixed-function oxidase components of rodents. *Mol Pharmacol* 9(2):237-246.

- Magos L, Clarkson TW. 2006. Overview of the clinical toxicity of mercury. *Ann Clin Biochem* 43(Pt 4):257-268.
- Mahaffey KR., Clickner RP. and. Bodurow CC, 2004 .Blood organic mercury and dietary mercury intake: National Health and Nutrition Examination Survey, 1999 and 2000, *Environ Health Perspect* **112** (2004), pp. 562–570. [View Record in Scopus](#) | [Cited By in Scopus](#) (84)
- Mahaffey KR. 1999. Methylmercury: a new look at the risks. *Public Health Rep* 114(5):396-399, 402-313.
- Mahaffey KR. 2004. Fish and shellfish as dietary sources of methylmercury and the omega-3 fatty acids, eicosahexaenoic acid and docosahexaenoic acid: risks and benefits. *Environ Res* 95(3):414-428.
- Mahaffey KR, Mergler D. 1998. Blood levels of total and organic mercury in residents of the upper St. Lawrence River basin, Quebec: association with age, gender, and fish consumption. *Environ Res* 77(2):104-114.
- Mariussen E, Andersson PL, Tysklind M, Fonnum F. 2001. Effect of polychlorinated biphenyls on the uptake of dopamine into rat brain synaptic vesicles: a structure-activity study. *Toxicol Appl Pharmacol* 175(2):176-183.
- Mariussen E, Fonnum F. 2001. The effect of polychlorinated biphenyls on the high affinity uptake of the neurotransmitters, dopamine, serotonin, glutamate and GABA, into rat brain synaptosomes. *Toxicology* 159(1-2):11-21.
- Mariussen E, Morch Andersen J, Fonnum F. 1999. The effect of polychlorinated biphenyls on the uptake of dopamine and other neurotransmitters into rat brain synaptic vesicles. *Toxicol Appl Pharmacol* 161(3):274-282.
- Marrugo-Negrete J, Verbel JO, Ceballos EL, Benitez LN. 2008. Total mercury and methylmercury concentrations in fish from the Mojana region of Colombia. *Environ Geochem Health* 30(1):21-30.
- Masuda Y, Haraguchi K, Kuroki H, Ryan JJ. 1995. [Change of PCDF and PCB concentrations in the blood of Yucheng and Yusho patients for 25 years]. *Fukuoka Igaku Zasshi* 86(5):178-183.
- Maurice-Bourgoin L, Quiroga I, Chincheros J, Courau P. 2000. Mercury distribution in waters and fishes of the upper Madeira rivers and mercury exposure in riparian Amazonian populations. *Sci Total Environ* 260(1-3):73-86.

- McKeown-Eyssen GE, Ruedy J. 1983. Methyl mercury exposure in northern Quebec. I. Neurologic findings in adults. *Am J Epidemiol* 118(4):461-469.
- McKeown-Eyssen GE, Ruedy J. 1983. Prevalence of neurological abnormality in Cree Indians exposed to methylmercury in northern Quebec. *Clin Invest Med* 6(3):161-169.
- Meerts IA, Assink Y, Cenijn PH, Van Den Berg JH, Weijers BM, Bergman A, et al. 2002. Placental transfer of a hydroxylated polychlorinated biphenyl and effects on fetal and maternal thyroid hormone homeostasis in the rat. *Toxicol Sci* 68(2):361-371.
- Mergler D, Anderson HA, Chan LH, Mahaffey KR, Murray M, Sakamoto M, et al. 2007. Methylmercury exposure and health effects in humans: a worldwide concern. *Ambio* 36(1):3-11.
- Mergler D, Belanger S, Larribe F, Panisset M, Bowler R, Baldwin M, et al. 1998. Preliminary evidence of neurotoxicity associated with eating fish from the Upper St. Lawrence River Lakes. *Neurotoxicology* 19(4-5):691-702.
- Mergler D, Huel G, Belanger S, Bowler RM, Truchon G, Drolet D, et al. 1996. Surveillance of early neurotoxic dysfunction. *Neurotoxicology* 17(3-4):803-812.
- Meyers JE, Bayless JD, Meyers KR. 1996. Rey complex figure: memory error patterns and functional abilities. *Appl Neuropsychol* 3(2):89-92.
- Ministère du Développement Durable de l'Environnement et des Parcs. 2007. État de situation des rejets anthropiques de mercure dans l'environnement au Québec. <http://www.mddep.gouv.qc.ca/matieres/mercure/mercure.pdf>
- Miura K, Clarkson TW. 1993. Reduced methylmercury accumulation in a methylmercury-resistant rat pheochromocytoma PC12 cell line. *Toxicol Appl Pharmacol* 118(1):39-45.
- Miyazaki W, Iwasaki T, Takeshita A, Kuroda Y, Koibuchi N. 2004. Polychlorinated biphenyls suppress thyroid hormone receptor-mediated transcription through a novel mechanism. *J Biol Chem* 279(18):18195-18202.
- Moreira JD, Knorr L, Thomazi AP, Simao F, Battu C, Oses JP, et al. 2009. Dietary omega-3 fatty acids attenuate cellular damage after a hippocampal ischemic insult in adult rats. *J Nutr Biochem*.



- Morris MC. 2009. The role of nutrition in Alzheimer's disease: epidemiological evidence. *Eur J Neurol* 16 Suppl 1:1-7.
- Morrisette J, Takser L, St-Amour G, Smargiassi A, Lafond J, Mergler D. 2004. Temporal variation of blood and hair mercury levels in pregnancy in relation to fish consumption history in a population living along the St. Lawrence River. *Environ Res* 95(3):363-374.
- Moser GA, McLachlan MS. 2001. The influence of dietary concentration on the absorption and excretion of persistent lipophilic organic pollutants in the human intestinal tract. *Chemosphere* 45(2):201-211.
- Muir D, Wang X, Bright D, Lockhart L, Kock G. 2005. Spatial and temporal trends of mercury and other metals in landlocked char from lakes in the Canadian Arctic archipelago. *Sci Total Environ* 351-352:464-478.
- Mundy WR, Shafer TJ, Tilson HA, Kodavanti PR. 1999. Extracellular calcium is required for the polychlorinated biphenyl-induced increase of intracellular free calcium levels in cerebellar granule cell culture. *Toxicology* 136(1):27-39.
- National Research Council, 2000. Toxicological effects of methyl mercury. National Academy Press, Washington DC, 344 pp.
- Negri E, Bosetti C, Fattore E, La Vecchia C. 2003. Environmental exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs) and breast cancer: a systematic review of the epidemiological evidence. *Eur J Cancer Prev* 12(6):509-516.
- Nguon K, Baxter MG, Sajdel-Sulkowska EM. 2005. Perinatal exposure to polychlorinated biphenyls differentially affects cerebellar development and motor functions in male and female rat neonates. *Cerebellum* 4(2):112-122.
- Nichols BR, Hentz KL, Aylward L, Hays SM, Lamb JC. 2007. Age-specific reference ranges for polychlorinated biphenyls (PCB) based on the NHANES 2001-2002 survey. *J Toxicol Environ Health A* 70(21):1873-1877.
- Nielsen JB, Andersen O. 1991. Methyl mercuric chloride toxicokinetics in mice. I: Effects of strain, sex, route of administration and dose. *Pharmacol Toxicol* 68(3):201-207.
- Nielsen JB, Andersen O. 1991. Methyl mercuric chloride toxicokinetics in mice. II: Sexual differences in whole-body retention and deposition in blood, hair, skin, muscles and fat. *Pharmacol Toxicol* 68(3):208-211.

- O'Keefe PW, Clayton WC, Connor S, Bush B, Hong CS. 2006. Organic pollutants in wild ducks from New York state: I. Interspecies differences in concentrations and congener profiles of PCBs and PCDDs/PCDFs. *Sci Total Environ* 361(1-3):111-123.
- Oken E, Bellinger DC. 2008. Fish consumption, methylmercury and child neurodevelopment. *Curr Opin Pediatr* 20(2):178-183.
- Olafsson PG, Bryan AM, Stone W. 1988. Polychlorinated biphenyls and polychlorinated dibenzofurans in the tissues of patients with yusho or yu-chen: total toxicity. *Bull Environ Contam Toxicol* 41(1):63-70.
- Oskarsson A, Palminger Hallen I, Sundberg J, Petersson Grawe K. 1998. Risk assessment in relation to neonatal metal exposure. *Analyst* 123(1):19-23.
- Park MJ, Lee SK, Yang JY, Kim KW, Lee SY, Lee WT, et al. 2005. Distribution of organochlorines and PCB congeners in Korean human tissues. *Arch Pharm Res* 28(7):829-838.
- Passos CJ, Da Silva DS, Lemire M, Fillion M, Guimaraes JR, Lucotte M, et al. 2008. Daily mercury intake in fish-eating populations in the Brazilian Amazon. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 18(1):76-87.
- Persky V, Turyk M, Anderson HA, Hanrahan LP, Falk C, Steenport DN, et al. 2001. The effects of PCB exposure and fish consumption on endogenous hormones. *Environ Health Perspect* 109(12):1275-1283.
- Phelps RW, Clarkson TW, Kershaw TG, Wheatley B. 1980. Interrelationships of blood and hair mercury concentrations in a North American population exposed to methylmercury. *Arch Environ Health* 35(3):161-168.
- Poissant L, Zhang HH, Canario J, Constant P. 2008. Critical review of mercury fates and contamination in the Arctic tundra ecosystem. *Sci Total Environ* 400(1-3):173-211.
- Pranjic N, Sinanovic O, Karamehic J, Jakubovic R. 2002. Assessment of chronic neuropsychological effects of mercury vapour poisoning in chloral-alkali plant workers. *Bosn J Basic Med Sci* 2(1-2):29-34.
- Rawn DF, Forsyth DS, Ryan JJ, Breakell K, Verigin V, Nicolidakis H, et al. 2006. PCB, PCDD and PCDF residues in fin and non-fin fish products from the Canadian retail market 2002. *Sci Total Environ* 359(1-3):101-110.

- Regan D, Neima D. 1983. Low-contrast letter charts as a test of visual function. *Ophthalmology* 90(10):1192-1200.
- Reitan RM. 1958. Validity of the Trail Making Test as an indication of organic brain damage. *Percept, Motor Skills* 8:271-276.
- Renzoni A, Zino F, Franchi E. 1998. Mercury levels along the food chain and risk for exposed populations. *Environ Res* 77(2):68-72.
- Rice DC. 2008. Overview of modifiers of methylmercury neurotoxicity: chemicals, nutrients, and the social environment. *Neurotoxicology* 29(5):761-766.
- Rice DC, Gilbert SG. 1990. Effects of developmental exposure to methyl mercury on spatial and temporal visual function in monkeys. *Toxicol Appl Pharmacol* 102(1):151-163.
- Rice DC, Hayward S. 1997. Effects of postnatal exposure to a PCB mixture in monkeys on nonspatial discrimination reversal and delayed alternation performance. *Neurotoxicology* 18(2):479-494.
- Rice DC, Schoeny R, Mahaffey K. 2003. Methods and rationale for derivation of a reference dose for methylmercury by the U.S. EPA. *Risk Anal* 23(1):107-115.
- Risher JF, De Rosa CT. 2007. Inorganic: the other mercury. *J Environ Health* 70(4):9-16; discussion 40.
- Roegge CS, Morris JR, Villareal S, Wang VC, Powers BE, Klintsova AY, et al. 2006. Purkinje cell and cerebellar effects following developmental exposure to PCBs and/or MeHg. *Neurotoxicol Teratol* 28(1):74-85.
- Roegge CS, Schantz SL. 2006. Motor function following developmental exposure to PCBs and/or MEHG. *Neurotoxicol Teratol* 28(2):260-277.
- Roegge CS, Wang VC, Powers BE, Klintsova AY, Villareal S, Greenough WT, et al. 2004. Motor impairment in rats exposed to PCBs and methylmercury during early development. *Toxicol Sci* 77(2):315-324.
- Roels HA, Ortega Eslava MI, Ceulemans E, Robert A, Lison D. 1999. Prospective study on the reversibility of neurobehavioral effects in workers exposed to manganese dioxide. *Neurotoxicology* 20(2-3):255-271.
- Rogan WJ, Gladen BC, McKinney JD, Carreras N, Hardy P, Thullen J, et al. 1986. Polychlorinated biphenyls (PCBs) and dichlorodiphenyl dichloroethene (DDE)

- in human milk: effects of maternal factors and previous lactation. *Am J Public Health* 76(2):172-177.
- Ross G. 2004. The public health implications of polychlorinated biphenyls (PCBs) in the environment. *Ecotoxicol Environ Saf* 59(3):275-291.
- Ruder AM, Hein MJ, Nilsen N, Waters MA, Laber P, Davis-King K, et al. 2006. Mortality among workers exposed to polychlorinated biphenyls (PCBs) in an electrical capacitor manufacturing plant in Indiana: an update. *Environ Health Perspect* 114(1):18-23.
- Rylander L, Wallin E, Jonsson BA, Stridsberg M, Erfurth EM, Hagmar L. 2006. Associations between CB-153 and p,p'-DDE and hormone levels in serum in middle-aged and elderly men. *Chemosphere* 65(3):375-381.
- Safe SH. 1994. Polychlorinated biphenyls (PCBs): environmental impact, biochemical and toxic responses, and implications for risk assessment. *Crit Rev Toxicol* 24(2):87-149.
- Salay E, Garabrant D. 2009. Polychlorinated biphenyls and thyroid hormones in adults: a systematic review appraisal of epidemiological studies. *Chemosphere* 74(11):1413-1419.
- Sanders T, Liu Y, Buchner V, Tchounwou PB. 2009. Neurotoxic effects and biomarkers of lead exposure: a review. *Rev Environ Health* 24(1):15-45.
- Santamaria AB. 2008. Manganese exposure, essentiality & toxicity. *Indian J Med Res* 128(4):484-500.
- SAS Institute Inc. 1999. SAS/STAT User's Guide, version 8:Cary, NC.
- Santé Canada. 2007. Les normes révisées de Santé Canada sur le mercure dans le poisson assurent une meilleure protection et reflètent les conseils du Guide alimentaire canadien disponible: [http://www.hc-sc.gc.ca/ahc-asc/media/advisories-avis/\\_2007/2007\\_31-fra.php](http://www.hc-sc.gc.ca/ahc-asc/media/advisories-avis/_2007/2007_31-fra.php).
- Santé Canada. 2007. Évaluation des risques pour la santé liés au mercure présent dans le poisson et bienfaits pour la santé associés à la consommation de poisson. Bureau d'innocuité des produits chimiques. Direction des aliments. Direction générale des produits de santé et des aliments. Ottawa. 83 p.

- Santé Canada. 2007. Normes canadiennes ("limites maximales") concernant divers contaminants chimiques dans les aliments. Disponible: <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/securit/chem-chim/contaminants-guidelines-directives-fra.php>
- Health Canada. 1998. The Health and Environment Handbook for Health Professionals: Health and Environment. 1998. Health Canada.
- Schantz SL, Gardiner JC, Gasior DM, Sweeney AM, Humphrey HE, McCaffrey RJ. 1999. Motor function in aging Great Lakes fish eaters. *Environ Res* 80(2 Pt 2):S46-S56.
- Schantz SL, Gasior DM, Polverejan E, McCaffrey RJ, Sweeney AM, Humphrey HE, et al. 2001. Impairments of memory and learning in older adults exposed to polychlorinated biphenyls via consumption of Great Lakes fish. *Environ Health Perspect* 109(6):605-611.
- Scheuhammer AM, Meyer MW, Sandheinrich MB, Murray MW. 2007. Effects of environmental methylmercury on the health of wild birds, mammals, and fish. *Ambio* 36(1):12-18.
- Schisterman EF, Whitcomb BW, Louis GM, Louis TA. 2005. Lipid adjustment in the analysis of environmental contaminants and human health risks. *Environ Health Perspect* 113(7):853-857.
- Schlummer M, Moser GA, McLachlan MS. 1998. Digestive tract absorption of PCDD/Fs, PCBs, and HCB in humans: mass balances and mechanistic considerations. *Toxicol Appl Pharmacol* 152(1):128-137.
- Schnellmann RG, Putnam CW, Sipes IG. 1983. Metabolism of 2,2',3,3',6,6'-hexachlorobiphenyl and 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl by human hepatic microsomes. *Biochem Pharmacol* 32(21):3233-3239.
- Schultz CD, Crear D, Pearson JE, Rivers JE, Hylin JW. 1976. Total and organic mercury in the Pacific blue marlin. *Bull Environ Contam Toxicol* 15(2):230-234.
- Schumacher C, Brodtkin CA, Alexander B, Cullen M, Rainey PM, van Netten C, et al. 1998. Thyroid function in lead smelter workers: absence of subacute or cumulative effects with moderate lead burdens. *Int Arch Occup Environ Health* 71(7):453-458.

- Schuur AG, Boekhorst FM, Brouwer A, Visser TJ. 1997. Extrathyroidal effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on thyroid hormone turnover in male Sprague-Dawley rats. *Endocrinology* 138(9):3727-3734.
- Schuur AG, Legger FF, van Meeteren ME, Moonen MJ, van Leeuwen-Bol I, Bergman A, et al. 1998. In vitro inhibition of thyroid hormone sulfation by hydroxylated metabolites of halogenated aromatic hydrocarbons. *Chem Res Toxicol* 11(9):1075-1081.
- Schuur AG, van Leeuwen-Bol I, Jong WM, Bergman A, Coughtrie MW, Brouwer A, et al. 1998. In vitro inhibition of thyroid hormone sulfation by polychlorobiphenyls: isozyme specificity and inhibition kinetics. *Toxicol Sci* 45(2):188-194.
- Schwarz M, Appel KE. 2005. Carcinogenic risks of dioxin: mechanistic considerations. *Regul Toxicol Pharmacol* 43(1):19-34.
- Seegal RF. 1994. The neurochemical effects of PCB exposure are age-dependent. *Arch Toxicol Suppl* 16:128-137.
- Seegal RF. 1996. Epidemiological and laboratory evidence of PCB-induced neurotoxicity. *Crit Rev Toxicol* 26(6):709-737.
- Seegal RF, Bush B, Brosch KO. 1994. Decreases in dopamine concentrations in adult, non-human primate brain persist following removal from polychlorinated biphenyls. *Toxicology* 86(1-2):71-87.
- Seegal RF, Okoniewski RJ, Brosch KO, Bemis JC. 2002. Polychlorinated biphenyls alter extraneuronal but not tissue dopamine concentrations in adult rat striatum: an in vivo microdialysis study. *Environ Health Perspect* 110(11):1113-1117.
- Seigneur C, Lohman K, Vijayaraghavan K, Jansen J, Levin L. 2006. Modeling atmospheric mercury deposition in the vicinity of power plants. *J Air Waste Manag Assoc* 56(6):743-751.
- Seigneur C, Vijayaraghavan K, Lohman K, Karamchandani P, Scott C. 2004. Global source attribution for mercury deposition in the United States. *Environ Sci Technol* 38(2):555-569.
- Sewall CH, Flagler N, Vanden Heuvel JP, Clark GC, Tritscher AM, Maronpot RM, et al. 1995. Alterations in thyroid function in female Sprague-Dawley rats following chronic treatment with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Toxicol Appl Pharmacol* 132(2):237-244.

- Sexton K. 1991. Human exposure assessment and public health. *Prog Clin Biol Res* 372:455-466.
- Shirai JH, Kissel JC. 1996. Uncertainty in estimated half-lives of PCBS in humans: impact on exposure assessment. *Sci Total Environ* 187(3):199-210.
- Simoneau M, Lucotte M, Garceau S, Laliberte D. 2005. Fish growth rates modulate mercury concentrations in walleye (*Sander vitreus*) from eastern Canadian lakes. *Environ Res* 98(1):73-82.
- Singh B, Chandran V, Bandhu HK, Mittal BR, Bhattacharya A, Jindal SK, et al. 2000. Impact of lead exposure on pituitary-thyroid axis in humans. *Biometals* 13(2):187-192.
- Smith A. 1968. The symbol-digit modalities test: a neuropsychologic test of learning and other cerebral disorders. In: *Learning disorders* (Helmuth J, ed). Seattle: Special Child Publications, 83-91.
- Snedeker SM. 2001. Pesticides and breast cancer risk: a review of DDT, DDE, and dieldrin. *Environ Health Perspect* 109 Suppl 1:35-47.
- Sousa VD, Zauszniewski JA, Musil CM. 2004. How to determine whether a convenience sample represents the population. *Appl Nurs Res* 17(2):130-133.
- Spitzer WO, Baxter DW, Barrows HS, Thomas DC, Tamblyn R, Wolfson CM, et al. 1988. Methylmercury and the health of autochthons in northwest Quebec. *Clin Invest Med* 11(2):71-98.
- Stamler CJ, Abdelouahab N, Vanier C, Mergler D, Chan HM. 2006. Relationship between platelet monoamine oxidase-B (MAO-B) activity and mercury exposure in fish consumers from the Lake St. Pierre region of Que., Canada. *Neurotoxicology* 27(3):429-436.
- Statistique Canada. Projection démographique .<http://www.statcan.gc.ca/pub/91-520-x/00105/4095095-fra.htm>
- Steenland K, Hein MJ, Cassinelli RT, 2nd, Prince MM, Nilsen NB, Whelan EA, et al. 2006. Polychlorinated biphenyls and neurodegenerative disease mortality in an occupational cohort. *Epidemiology* 17(1):8-13.
- Stewart PW, Reihman J, Lonky EI, Darvill TJ, Pagano J. 2003. Cognitive development in preschool children prenatally exposed to PCBs and MeHg. *Neurotoxicol Teratol* 25(1):11-22.

- Stuetz W. 2006. Global surveillance of DDT and DDE levels in human tissues. *Int J Occup Med Environ Health* 19(1):83.
- Suda I, Takahashi H. 1992. Degradation of methyl and ethyl mercury into inorganic mercury by other reactive oxygen species besides hydroxyl radical. *Arch Toxicol* 66(1):34-39.
- Suda I, Totoki S, Uchida T, Takahashi H. 1992. Degradation of methyl and ethyl mercury into inorganic mercury by various phagocytic cells. *Arch Toxicol* 66(1):40-44.
- Sugawara N, Nakai K, Nakamura T, Ohba T, Suzuki K, Kameo S, et al. 2006. Developmental and neurobehavioral effects of perinatal exposure to polychlorinated biphenyls in mice. *Arch Toxicol* 80(5):286-292.
- Sunderland EM. 2007. Mercury exposure from domestic and imported estuarine and marine fish in the U.S. seafood market. *Environ Health Perspect* 115(2):235-242.
- Syversen TL. 1982. Changes in protein and RNA synthesis in rat brain neurons after a single dose of methylmercury. *Toxicol Lett* 10(1):31-34.
- Takeuchi T. 1982. Pathology of Minamata disease. With special reference to its pathogenesis. *Acta Pathol Jpn* 32 Suppl 1:73-99.
- Takeuchi T, Eto K, Tokunaga H. 1989. Mercury level and histochemical distribution in a human brain with Minamata disease following a long-term clinical course of twenty-six years. *Neurotoxicology* 10(4):651-657.
- Takser L, Mergler D, Baldwin M, de Grosbois S, Smargiassi A, Lafond J. 2005. Thyroid hormones in pregnancy in relation to environmental exposure to organochlorine compounds and mercury. *Environ Health Perspect* 113(8):1039-1045.
- Tanis BC, Westendorp GJ, Smelt HM. 1996. Effect of thyroid substitution on hypercholesterolaemia in patients with subclinical hypothyroidism: a reanalysis of intervention studies. *Clin Endocrinol (Oxf)* 44(6):643-649.
- Tilson HA, Kodavanti PR. 1997. Neurochemical effects of polychlorinated biphenyls: an overview and identification of research needs. *Neurotoxicology* 18(3):727-743.



- Toni R, Della Casa C, Castorina S, Cocchi D, Celotti F. 2005. Effects of hypothyroidism and endocrine disruptor-dependent non-thyroidal illness syndrome on the GnRH-gonadotroph axis of the adult male rat. *J Endocrinol Invest* 28(11 Suppl Proceedings):20-27.
- Tran NL, Barraj L, Smith K, Javier A, Burke TA. 2004. Combining food frequency and survey data to quantify long-term dietary exposure: a methyl mercury case study. *Risk Anal* 24(1):19-30.
- Turyk M, Anderson HA, Hanrahan LP, Falk C, Steenport DN, Needham LL, et al. 2006. Relationship of serum levels of individual PCB, dioxin, and furan congeners and DDE with Great Lakes sport-caught fish consumption. *Environ Res* 100(2):173-183.
- Turyk ME, Anderson HA, Freels S, Chatterton R, Jr., Needham LL, Patterson DG, Jr., et al. 2006. Associations of organochlorines with endogenous hormones in male great lakes fish consumers and nonconsumers. *Environ Res*.
- Turyk ME, Anderson HA, Persky VW. 2007. Relationships of thyroid hormones with polychlorinated biphenyls, dioxins, furans, and DDE in adults. *Environ Health Perspect* 115(8):1197-1203.
- Uchino M, Tanaka Y, Ando Y, Yonehara T, Hara A, Mishima I, et al. 1995. Neurologic features of chronic minamata disease (organic mercury poisoning) and incidence of complications with aging. *J Environ Sci Health B* 30(5):699-715.
- Ulbrich B, Stahlmann R. 2004. Developmental toxicity of polychlorinated biphenyls (PCBs): a systematic review of experimental data. *Arch Toxicol* 78(5):252-268.
- United States Environmental Protection Agency (US EPA). 2007. Methylmercury (CASRN 22967-92-6). Integrated Risk Information System. Adresse internet: [www.epa.gov/iris/subst/0073.htm](http://www.epa.gov/iris/subst/0073.htm)
- United States Environmental Protection Agency (US EPA). A Review of the Reference Dose and Reference Concentration Processes. 2003. US EPA/630/P-02/002F, December 1, 2002. Risk Assessment Forum, Washington, DC, 192pp. Available:<http://www.epa.gov/iris/subst/0073.htm>. (Accessed: September 2007)
- United States Food and Drug Administration. Mercury Concentrations in Fish: FDA Monitoring Program (1990-2004). 2004. Washington, DC: Food and Drug Administration. Available: <http://www.cfsan.fda.gov/~frf/seamchg2.html>. (Accessed: October 2007)

- Vahter M, Berglund M, Akesson A, Liden C. 2002. Metals and women's health. *Environ Res* 88(3):145-155.
- Vahter M, Gochfeld M, Casati B, Thiruchelvam M, Falk-Filippson A, Kavlock R, et al. 2006. Implications of gender differences for human health risk assessment and toxicology. *Environ Res*.
- Vahter M, Mottet NK, Friberg L, Lind B, Shen DD, Burbacher T. 1994. Speciation of mercury in the primate blood and brain following long-term exposure to methyl mercury. *Toxicol Appl Pharmacol* 124(2):221-229.
- Vahter ME, Mottet NK, Friberg LT, Lind SB, Charleston JS, Burbacher TM. 1995. Demethylation of methyl mercury in different brain sites of *Macaca fascicularis* monkeys during long-term subclinical methyl mercury exposure. *Toxicol Appl Pharmacol* 134(2):273-284.
- Valko M, Morris H, Cronin MT. 2005. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem* 12(10):1161-1208.
- Van Birgelen AP, Smit EA, Kampen IM, Groeneveld CN, Fase KM, Van der Kolk J, et al. 1995. Subchronic effects of 2,3,7,8-TCDD or PCBs on thyroid hormone metabolism: use in risk assessment. *Eur J Pharmacol* 293(1):77-85.
- van Raaij JA, Frijters CM, van den Berg KJ. 1993. Hexachlorobenzene-induced hypothyroidism. Involvement of different mechanisms by parent compound and metabolite. *Biochem Pharmacol* 46(8):1385-1391.
- van Raaij JA, Kaptein E, Visser TJ, van den Berg KJ. 1993. Increased glucuronidation of thyroid hormone in hexachlorobenzene-treated rats. *Biochem Pharmacol* 45(3):627-631.
- Visser TJ, Kaptein E, van Toor H, van Raaij JA, van den Berg KJ, Joe CT, et al. 1993. Glucuronidation of thyroid hormone in rat liver: effects of in vivo treatment with microsomal enzyme inducers and in vitro assay conditions. *Endocrinology* 133(5):2177-2186.
- Vogel DG, Margolis RL, Mottet NK. 1985. The effects of methyl mercury binding to microtubules. *Toxicol Appl Pharmacol* 80(3):473-486.
- Wade MG, Parent S, Finnon KW, Foster W, Younglai E, McMahon A, et al. 2002. Thyroid toxicity due to subchronic exposure to a complex mixture of 16 organochlorines, lead, and cadmium. *Toxicol Sci* 67(2):207-218.

- Waldron HA. 1983. Did the Mad Hatter have mercury poisoning? *Br Med J (Clin Res Ed)* 287(6409):1961.
- Wangberg I, Munthe J, Ebinghaus R, Gardfeldt K, Iverfeldt A, Sommar J. 2003. Distribution of TPM in Northern Europe. *Sci Total Environ* 304(1-3):53-59.
- Weber G, Vigone MC, Stroppa L, Chiumello G. 2003. Thyroid function and puberty. *J Pediatr Endocrinol Metab* 16 Suppl 2:253-257.
- Weihe P, Grandjean P, Debes F, White R. 1996. Health implications for Faroe islanders of heavy metals and PCBs from pilot whales. *Sci Total Environ* 186(1-2):141-148.
- Weihe P, Hansen JC, Murata K, Debes F, Jorgensen P, Steuerwald U, et al. 2002. Neurobehavioral performance of Inuit children with increased prenatal exposure to methylmercury. *Int J Circumpolar Health* 61(1):41-49.
- Weil M, Bressler J, Parsons P, Bolla K, Glass T, Schwartz B. 2005. Blood mercury levels and neurobehavioral function. *Jama* 293(15):1875-1882.
- Weiss B. 2000. Vulnerability to pesticide neurotoxicity is a lifetime issue. *Neurotoxicology* 21(1-2):67-73.
- Weiss J, Papke O, Bergman A. 2005. A worldwide survey of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans, and related contaminants in butter. *Ambio* 34(8):589-597.
- Weschler D. 1981. *WAIS-R Manual: Weschler Adult Intelligence Scale, Revised Edition*. New York, USA: The Psychological Corporation.
- Whanger PD. 2001. Selenium and the brain: a review. *Nutr Neurosci* 4(2):81-97.
- Widholm JJ, Villareal S, Seegal RF, Schantz SL. 2004. Spatial alternation deficits following developmental exposure to Aroclor 1254 and/or methylmercury in rats. *Toxicol Sci* 82(2):577-589.
- World Health Organization (WHO). 1990. *Environmental Health Criteria 101: Methylmercury*. Geneva, World Health Organization. 144 p.
- Wolff MS. 1985. Occupational exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs). *Environ Health Perspect* 60:133-138.

- Wren CD, Hunter DB, Leatherland JF, Stokes PM. 1987. The effects of polychlorinated biphenyls and methylmercury, singly and in combination on mink. II: Reproduction and kit development. *Arch Environ Contam Toxicol* 16(4):449-454.
- Wren CD, Hunter DB, Leatherland JF, Stokes PM---. 1987. The effects of polychlorinated biphenyls and methylmercury, singly and in combination, on mink. I: uptake and toxic responses. *Arch Environ Contam Toxicol* 16(4):441-447.
- Yakushiji T, Watanabe I, Kuwabara K, Tanaka R, Kashimoto T, Kunita N, et al. 1984. Rate of decrease and half-life of polychlorinated biphenyls (PCBs) in the blood of mothers and their children occupationally exposed to PCBs. *Arch Environ Contam Toxicol* 13(3):341-345.
- Yokoo EM, Valente JG, Grattan L, Schmidt SL, Platt I, Silbergeld EK. 2003. Low level methylmercury exposure affects neuropsychological function in adults. *Environ Health* 2(1):8.
- Yoshida M, Satoh H, Kishimoto T, Yamamura Y. 1992. Exposure to mercury via breast milk in suckling offspring of maternal guinea pigs exposed to mercury vapor after parturition. *J Toxicol Environ Health* 35(2):135-139.
- Yoshida Y, Kamitsuchibashi H, Hamada R, Kuwano Y, Mishima I, Igata A. 1992. Truncal hypesthesia in patients with Minamata disease. *Intern Med* 31(2):204-207.
- Zhou T, Ross DG, DeVito MJ, Crofton KM. 2001. Effects of short-term in vivo exposure to polybrominated diphenyl ethers on thyroid hormones and hepatic enzyme activities in weanling rats. *Toxicol Sci* 61(1):76-82.
- Zimmermann MB, Aeberli I, Torresani T, Burgi H. 2005. Increasing the iodine concentration in the Swiss iodized salt program markedly improved iodine status in pregnant women and children: a 5-y prospective national study. *Am J Clin Nutr* 82(2):388-392.