UPPSALA
UNIVERSITET

Med vilka mekanismer kan bromerade flamskyddsmedel påverka hjärnans utveckling?

Sofia Sjöberg

Independent Project in Biology
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, vårterminen 2015
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Sammandrag
Bromerade flamskyddsmedel är bioackumulerbara, långlivade i miljön och toxiska. De är i dag förbjudna i EU, men finns fortfarande kvar i miljön och i oss. I Sverige är de högsta uppmätta värden i blod runt 17 ng/g blod och barn har högre halter i kroppen än vuxna. En hjärna under utveckling som hos barn är känsligare för påverkan, denna text behandlar möjliga mekanismer med vilka bromerade flamskyddsmedel kan påverka denna utveckling.

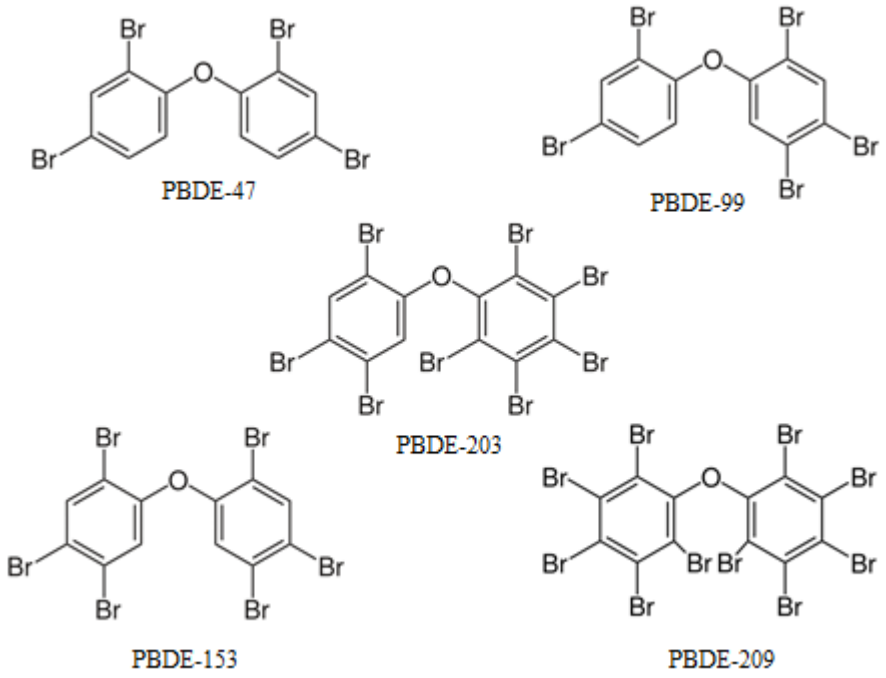
Bromerade flamskyddsmedel kan störa transport, binda receptorer och ge minskade halter av sköldkörtelhormoner i kroppen. Detta ger indirekt en påverkan på hjärnans utveckling, där sköldkörtelhormonerna spelar en viktig roll. Direkta mekanismer är påverkan på neurotransmittorer så som förhindrande av upptag av dopamin i vesiklar och nervceller, bindande av GABA receptorer som agonist och förändring av kolinerga nervceller och inverkan på acetylkolins receptorsammansättning. De bromerade flamskyddsmedlen inducerar oxidativ stress, förändring i genuttryck av proteiner delaktiga i synaptisk plasticitet och LTP, samt förändring av intracellulär signalering genom kalciumjoner och MAPK/ERK signalvägar. Detta ger störningar i bland annat cellmigration, celldifferentiering, cellproliferation, apoptos, minne och inlärning. Dessa är alla viktiga processer när hjärnan utvecklas. Många av mekanismerna ger en effekt i hippocampus, vilket skulle kunna bero på dess ständiga förnyelse.

Reglering av de bromerade flamskyddsmedlen har redan visats ge lägre halter i människor, dock finns det en rad nya flamskyddsmedel i användning som ersättare. Dessa har visat indikationer på liknande verkan på hjärnans utveckling som bromerade flamskyddsmedel, men är idag fria att använda.

Inledning
Vi utsätts dagligen för en blandning av olika ämnen och substanser. Bland dessa ämnen finns bromerade flamskyddsmedel, även kallade polybromerade difenyletrar (PBDE). Dessa ämnen går att hitta i textiler, elektronik och byggmaterial, där uppgiften är att minska brandrisken i materialen (Linares *et al*. 2015). Eftersom ämnena inte är kemiskt bundna till materialen så kan de läcka ut när de används eller produceras (Domingo 2012). På så sätt blir människor exponerade för ämnena och de kan eventuellt påverka funktioner i kroppen.

Ungefär 70 olika former av 209 möjliga bromerade flamskyddsmedel är eller har varit i bruk. De fem vanligaste bromerade flamskyddsmedlen i världen och Sverige är pentabromdifenyleter (PBDE-99), oktabromdifenyleter (PBDE-203), dekabromfenyleter (PBDE-209), tetrabrombisfenol A (PBDE-47) och hexabromcyklododekan (PBDE-153) (Figur 1)(Kemikalieinspektionen 2007). Det är olika antal bromatomer på olika positioner som skiljer dem åt och ger dem lite olika egenskaper. Ungefär 2000 ton bromerade flamskyddsmedel uppskattas komma till Sverige varje år genom import av produkter som innehåller bromerade flamskyddsmedel. Detta är vår huvudsakliga källa till bromerade flamskyddsmedel (Kemikalieinspektionen 2007). De bromerade flamskyddsmedlen räknas som bioackumulerbara och ansamlas därmed i organismer samt ökar i halt längre upp i näringskedjan. De är även långlivade i miljön och har påvisat toxiska effekter. Det finns inga generella förbud eller lagar när det gäller bromerade flamskyddsmedel, utan det beror på vilket av flamskyddsmedlen det handlar om. Sen 2003 har det varit förbjudet på EU nivå att sälja produkter som innehåller mer än 0,001 % pentabromdifenyleter, tetrabromdifenyleter eller oktabromdifenyleter, samt att från och med 2006 har det varit förbjudet att använda alla former av PBDE i elektriska och elektroniska produkter (Ezechias *et al*. 2014). Trots

reglering som begränsar deras användning så finns dock ämnena kvar i vår miljö och i produkter som fortfarande är i användning (Kemikalieinspektionen 2007).

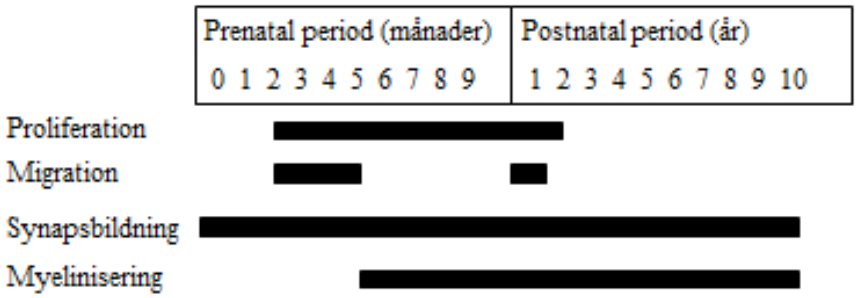


Figur 1. Struktur för de fem vanligaste bromerade flamskyddsmedlen.

Bromerade flamskyddsmedel kan debromineras av till exempel mikroorganismer (Lee & He 2010) och bilda någon av de andra formerna av bromerade flamskyddsmedel med ett mindre antal bromatomer, vilket ofta gör dem mer toxiska och lättare att ackumulera (Stubbings & Harrad 2014). Detsamma gäller för hydroxylerade former av bromerade flamskyddsmedel (OH-PBDE) som ofta är mer toxiska än urspungsformerna. De bildas i metabolismen av de bromerade flamskyddsmedlen genom cytokrom P450 enzymer och har visats göra det i mänskliga leverceller (Stapleton *et al*. 2009). De som skiljer dem från ursprungsformerna är hydroxylgrupper istället för vissa bromatomer. Koncentrationen av OH-PBDE hos mödrar i USA har ett medelvärde på 79 ng/gram lipider, detta är ett högt värde som indikerar att OH-PBDE kan ackumuleras hos människor (Qiu *et al*. 2009). Effekterna av de hydroxylerade metaboliterna är att de bland annat aktiverar apoptos (programmerad celldöd) (Zhong *et al*. 2011).

I Sverige får vi genom kosten i oss i genomsnitt 51 ng/dag av de olika formerna bromerade flamskyddsmedel, främst från fisk och mejeriprodukter (Tornkvist *et al*. 2011). Dock kan man bli exponerad på ett flertal olika sätt, till exempel genom damm i de rum vi vistas i. Studier på halten PBDE molekyler i klassrum i Storbritannien visar på halter som uppnår 2,6 mg/g damm (Harrad *et al*. 2010). Barn är ofta extra känsliga för exponeringen av PBDE molekyler och barn har de högsta halterna av PBDE, främst genom att de spenderar mer tid på golv där damm befinner sig samt att de utforskar världen med hjälp av händer och munnen (Fischer *et al*. 2006). Små barn får även i sig extra PBDEs från bröstmjölk. Studier på gravida kvinnor i Uppsala mellan 1996 och 2010 visar att flera av PBDE formerna minskar i koncentration, men att andra former så som PBDE-153 ökat i koncentration (Darnerud *et al*. 2015). Detta som en följd av ändrad användning av de olika formerna, under åren för studien (Darnerud *et al*. 2015)

Genom livet så utvecklas hjärnan genom ett flertal olika mekanismer så som proliferation, cellmigrering, celldifferentiering, bildande av synapser, apoptos och myelinisering (figur 2). Detta sker från embryo upp till vuxen ålder och de delar av hjärnan som är under utveckling och förändras kommer att vara känsligare än delar av hjärnan som är mer fasta och färdigutvecklade (Rice & Barone 2000). En period av mycket snabb utveckling hos barnet sker under de tre sista månaderna av graviditeten och genom de två första åren i livet (Viberg *et al*. 2008). Ett flertal studier har påvisat att bromerade flamskyddsmedel kan påverka denna utveckling och bland annat ge lägre intelligens och sämre fysisk utveckling (Herbstman *et al*. 2010, Chao *et al*. 2011). Dessutom har studier på möss visat minskad habituering, minskad inlärning, försämrat minne och hyperaktivitet (Viberg *et al*. 2003, Viberg *et al*. 2006). Habituering är att vänja sig vid ett visst stimuli, vilket gör att man inte längre reagerar lika starkt och är på så sätt en form av minne.



Figur 2. Tidpunkter för några viktiga händelser i hjärnans utveckling, omritad efter (Rice & Barone 2000).

Det finns flera möjliga mekanismer för hur bromerade flamskyddsmedel skulle kunna påverka hjärnan. Med exakt vilka mekanismer är idag oklart. Syftet med denna text är att ta upp de mekanismer som man ser som möjliga idag när det gäller påverkan på hjärnan och dess utveckling.

Inverkan på intracellulär signalering

Intracellulär signalering är en viktig process i kroppen och i hjärnan för att kunna signalera och koordinera funktioner. Sekundära budbärare för signalen vidare och påverkar olika mål, till exempel gentranskription, utsöndring eller cytoskelettets form. Detta är viktiga processer delaktiga i många av kroppens funktioner, därför kan störningar i systemet ge många olika konsekvenser.

Förändringar i kalciumjonkoncentration

Kalciumjoner har många olika funktioner i hjärnan och kroppen. Bland annat så används kalciumjoner när GABA binder jonkanaler och gör dem permeabla för kalcium och signalen kan skickas vidare (Baba *et al*. 2003). Kalciumjoner är även nödvändiga för utsöndringen av neurotransmittorer från presynapsen, genom att kalciumjonerna utlöser exocytos av vesiklar innehållande neurotransmittorer (Oheim *et al*. 2006). Detta är en viktig del i hjärnans funktion, både under utvecklingen och senare i livet då neurotransmittorer överför signalen mellan nervceller. Exponering för bromerade flamskyddsmedel kan förändra proteinkinas C

(PKC) så att den translokeras från cytosolen. Denna translokering kommer att inhibera upptaget av kalciumjoner i mitokondrier, vilka annars fungerar som en kalciumjonbuffert. PBDE-71 ökar translokeringen av PKC och på så sätt förändras kalciumkoncentrationen då upptaget inhiberas, vilket ger följder för den intracellulära signaleringen (Kodavanti & Ward 2005).

PBDE-47 ger vid 20 µM en ökning av kalciumjoner i cytosolen, medan den hydroxylerade formen 6-OH-BDE-47 ger en ökning redan vid 1 µM (Dingemans *et al*. 2008). Ökningen sker främst genom intracellulära kalciumjoner som utsöndras från ER och mitokondrier. Dessa kalciumjoner är inblandade i kalciumjonhomeostas i cellerna, men även i utsöndringen av neurotransmittorer. Detta observerades genom en ökad utsöndring av katekolaminer, vilka är neurotransmittorerna dopamin, noradrenalin och adrenalin vid exponering av 6-OH-BDE-47 (Dingemans *et al*. 2008). Vidare har det visats att även 6-OH-BDE-49, 5-OH-BDE-47, 3-OH-BDE-47 och 4-OH-BDE-49 ger en ökad kalciumjonkoncentration från intracellulära buffertar, men inte de icke-hydroxylerade varianterna PBDE-49,PBDE-99, PBDE-100 och PBDE-153 (Dingemans *et al*. 2010).

Med en ökad koncentration av PBDE-209 får man en ökad koncentration av kalciumjoner i nervcellerna i hippocampus, en ökad mängd apoptos och en ökad expression av P38 MAPK (mitogenaktiverade proteinkinaser) (Chen *et al*. 2010). P38 MAPK leder till aktivering av kaliumkanaler genom fosforylering och klyvning av kaspaser, vilket är involverat i mekanismer bakom apoptos (McLaughlin *et al*. 2001). Detta har visats förändra signaltransduktionsvägar och inducera oxidativ stress, vilket kan leda till förändringar i inlärning och minne (Chen *et al*. 2010).

Förändringar i MAPK och ERK signalvägar

Protein kinaser är enzymer som fosforylerar proteiner, vilket ger möjligheter för reglering av enzymatisk aktivitet, interaktion med andra proteiner och förändring av proteinets position i cellen (Johnson & Lapadat 2002). MAPK reglerar genuttryck genom att fosforylera transkriptionsfaktorer, reglera genexpression post-transkriptionellt i cytoplasman och reglera DNA syntes genom ERK1/2 (extracellulära signalstyrda MAP-kinaser 1/2) som i sin tur fosforylerar enzymer inblandade i syntesen av pyrimidinnukleotider. ERK1/2 har även kopplats till cellöverlevnad (Chang & Karin 2001) och reglerar meios och mitos, samt är inblandade i inlärning och minne i det centrala nervsystemet (Johnson & Lapadat 2002).

PBDE-47, PBDE-77, PBDE-99 och PBDE-153 ökar ERK1/2 vid koncentrationer som inte ger en toxisk effekt (Fan *et al*. 2010), det vill säga som det oftast ser ut hos oss människor. ERK/MAPK vägar kan aktiveras av PKC och är delaktiga i celltillväxt och celldifferentiering (Schönwasser *et al*. 1998). Studier på möss visar att när de ställs för en ny uppgift så ökar mängden fosforylerat MAPK i hippocampus, vilket visar att MAPK är delaktigt i synaptisk plasticitet och att fosforyleringen av MAPK är nödvändigt för att inlärning och minne ska fungera (Alvarez-Jaimes *et al*. 2005). Dessutom så ökar PKC-aktiviteten med en ny uppgift, vilket pekar på att PKC modulerar fosforyleringen av MAPK (Alvarez-Jaimes *et al*. 2005). Fear conditioning är en association med ett stimuli som förutsäger en motbjudande händelse, till exempel signalen från en klocka som följs av en elchock (Maren 2001). Även detta leder till aktivering av ERK och MAPK i hippocampus (Chwang *et al*. 2006). Detta innebär att MAPK kaskader är nödvändiga för långtidsminnen av rädsla, samt andra former av inlärning och minne och att dessa processer påverkas av bromerade flamskyddsmedel.

Som tidigare diskuterats har den hydroxylerade formen 6-OH-PBDE-47 sitt ursprung som

PBDE-47 och kommer att uppvisa andra egenskaper. Denna form är en av de vanligaste uppmätta i människor då PBDE-47 används frekvent och kan i metabolismen omvandlas till den hydroxylerade formen som uppvisar toxicitet (Li *et al*. 2013). 6-OH-PBDE-47 minskar metabolism och aktivitet hos mitokondrier, vilket leder till färre antal nervceller (Li *et al*. 2013). Detta sker genom aktivering av apoptos, där 6-OH-PBDE-47 inducerar fragmentering av cellkärnan och ökar antalet aktiva kaspaser (Li *et al*. 2013). 6-OH-PBDE-47 hindrar även nervcellernas proliferation genom inhibering av epidermala tillväxtfaktorer (EGF) och basisk fibroblasttillväxtfaktor (BFGF) som annars aktiverar ERK5 MAP kinas, vilket är ett kinas nödvändigt för överlevnad och differentiering av nervceller (Li *et al*. 2013). 6-OH-PBDE-47 inhiberar även differentiering av oligodendrocyter (Li *et al*. 2013), vilka är delaktiga i myeliniseringen av nervceller i det central nervsystemet. Myelinisering är essentiellt för höghastighetsöverföring av signaler i nervcellerna.

Effekt på neurotransmittorer

Ett flertal olika former av bromerade flamskyddsmedel har visats påverka upptaget av neurotransmittorer så som glutamat, dopamin och GABA (Mariussen & Fonnum 2003). Inhibering av upptaget av en neurotransmittor leder till en högre koncentration av neurotransmittorn utanför cellen, vilket kan ge en ökad effekt på receptorerna (Mariussen & Fonnum 2003). Bromerade flamskyddsmedel påverkar även kolinerga nervceller genom att förändra receptorer och minska antalet celler. De kolinerga nervcellerna använder acetylkolin som neurotransmittor och de finns i nästan alla hjärnområden och har många olika funktioner (Woolf & Butcher 2011).

Dopamin

Dopamin är delaktigt bland annat i motorfunktion genom basalganglia, i belöningssystemet och i beroenden (Wise 2004). Bromerade flamskyddsmedel så som PBDE-47 ökar mängden dopamin i prefrontala cortex hos möss (Gee *et al*. 2011). Prefrontal cortex, styr funktioner så som arbetsminne, uppmärksamhet, impulskontroll och initiering av rörelser (Arnsten & Li 2005). PBDE-71 inhiberar VMAT2 (vesicular monoamine transport protein 2) och DAT (dopamine active transporter), vilket hindrar upptaget av dopamin in i striatums nervceller (Dreiem *et al*. 2010, Bradner *et al*. 2013b). VMAT2 transporterar dopamin in i vesiklar i presynapsen, medan DAT transporterar dopamin in i nervcellens cytoplasma. Inhiberat upptag av dopamin kommer att påverka rörelser då striatum och dopamin är en viktig komponent i basalganglia, som möjliggör rörelser samt förhindrar oönskade rörelser. Man har sett brister i rörelsesätt hos möss vid exponering för bromerade flamskyddsmedel (Bradner *et al*. 2013b) och störningar i VMAT2 funktion kan ge skador i dopaminsystemet som kan leda till Parkinson´s sjukdom (Caudle *et al*. 2007).

GABA

GABA är en inhiberande neurotransmittor som ger ett flöde av kloridjoner in i nervcellen när den binder till sin receptor, vilket ger en hyperpolarisation som minskar sannolikheten för en aktionspotential. Under utvecklingen så är GABA aktiv redan innan bildandet av synapser och inhiberar vissa nervceller samtidigt som andra nervceller ökar sin proliferation genom att GABA modulerar tillväxtfaktorer så som BDNF, vilket får fler nervceller att differentiera (Represa & Ben-Ari 2005). Dessutom ökar och minskar GABA migrationen av nervceller i den växande hjärnan, genom att fungera som acceleratoriska signaler och stoppsignaler för migrationen (Represa & Ben-Ari 2005). Om detta störs av till exempel bromerade flamskyddsmedel så kan det leda till missbildningar på grund av felmigrerande nervceller.

6-OH-PBDE-47 kan aktivera GABA receptorer som både en partiell agonist och en fullständig agonist (Hendriks *et al*. 2010). Så 6-OH-PBDE-47 kan aktivera GABA receptorer både med lägre effektivitet, men också med full effektivitet. Under utvecklingen har GABA som tidigare nämnts en mycket viktig roll i den synaptiska plasticiteten, en förändrad aktivering av GABA kan då ge problem med migration, differentiering av nervceller eller bildandet av synapser. Dessa funktioner är essentiella för ett fungerande centralt nervsystem. Möss exponerade för PBDE-47 visar också minskad expression av 2α subenheter för GABA receptorer, samt minskning av det GABA syntetiserande enzymet GAD67. Färre av 2α subenheter innebär en minskning av antalet GABA receptorer. En minskning av GAD67 kan leda till förlorande av nervceller som innehåller GABA eller mindre produktion av GABA i nervcellerna. Detta sker specifikt i prefrontala cortex och effekten av PBDE-47 är störst på dendriter och axoner (Bradner *et al*. 2013a). Dessa strukturer är viktiga för att forma synaptiska kopplingar och bilda nervcellskretsar som krävs för funktion i frontal cortex.

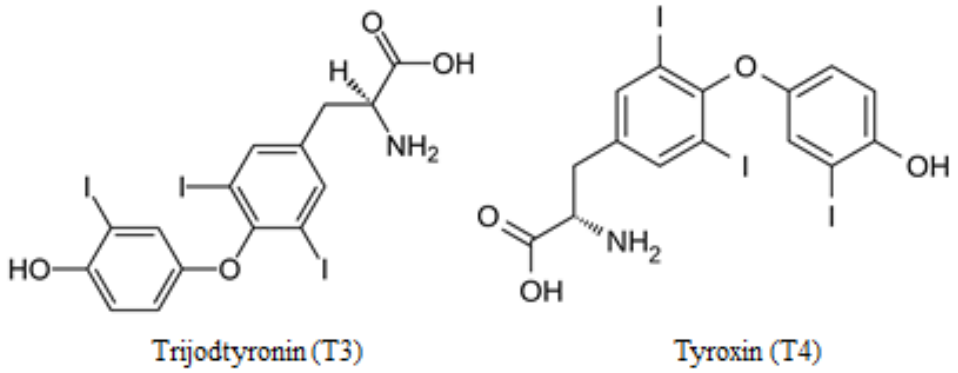
Acetylkolin

Acetylkolin är en excitatorisk neurotransmittor som kan verka på nikotinreceptorer och muskarinreceptorer. När acetylkolin binder till nikotinreceptorer så kommer positiva joner att flöda in i cellen och ge en depolarisation, vilket ökar sannolikheten för en aktionspotential. Muskarinreceptorer är g-proteinkopplade receptorer, vilket innebär att när acetylkolin binder aktiveras g-protein som startar intracellulära signalvägar som kan påverka processer i cellen. Kolinerga nervceller är involverade dels i muskelrörelser, men även i högre kognitiva funktioner så som uppmärksamhet, minne och medvetenhet och dess kopplingar sträcker sig till stora delar av hjärnan (Woolf & Butcher 2011). Acetylkolin är delaktig i utvecklingen av till exempel organisationen av synen, plasticitet hos nervcellerna genom förändringar i cytoskelettet, samt modulering av andra nervceller som utsöndrar neurotransmittorer så som GABA och glutamat (Woolf & Butcher 2011).

Exponering för PBDE-209 under utvecklingen förändrar det kolinergiska systemet bestående upp till vuxen ålder hos möss (Buratovic *et al*. 2014). Även exponering för PBDE-71 under en kort period i utvecklingen leder till förändringar i kolinerga nätverk. Antalet kolinerga nervceller blir färre och har en lägre densitet, speciellt sådana nervceller som är viktiga för uppmärksamhet (Dufault *et al*. 2005). Även exponering av andra PBDE former kommer att ge bestående förändringar, till exempel PBDE-153 som minskar antalet nikotinreceptorer i hippocampus (Viberg *et al*. 2003). Hydroxylerade former så som 6-OH-PBDE-47 kan ha en verkan som en svag antagonist till nikotinreceptorer och inhiberingen av receptorerna ökar med koncentrationen av 6-OH-PBDE-47 (Hendriks *et al*. 2010). Förändringar i signalering genom ett minskat antal receptorer eller inhibering av signalering kan hindra funktioner som acetylkolin har under utvecklingen och när hjärnan är färdigutvecklad. Exempel på dessa funktioner är långtidspotentiering (LTP) i hippocampus eller den synaptiska plasticiteten.

Påverkan på sköldkörtelhormoner

Sköldkörtelhormoner har en essentiell roll i utvecklingen av hjärnan och dess funktioner. Bromerade flamskyddsmedel liknar sköldkörtelhormoner strukturellt (Figur 3) och man har sett indikationer på påverkan av sköldkörtelhormonernas funktion. Till exempel på sköldkörtelhormonernas koncentration, transport och receptorer.



Figur 3. Struktur för de två sköldkörtelhormonerna T3 och T4.

Sköldkörtelhormoners roll i hjärnans utveckling
Det är först vid ungefär 70 dagar in i graviditeten som barnet själv börjar producera sköldkörtelhormoner, innan dess får barnet hormonerna från mamman (Shepard 1967). Detta gör att moderns halter av sköldkörtelhormoner kommer att avspegla barnets och påverka barnets utveckling. I sköldkörteln produceras främst tyroxin (T4), vilken kan förlora en jodatom och bli till trijodtyronin (T3) som är den aktiva formen. Under graviditeten så kommer T3 och T4 halterna att öka och moderns halter av hormonerna kommer att påverka hur barnets hjärna utvecklas i livmodern. Produktion av sköldkörtelhormonerna regleras i en axel av hypotalamus, hypofysen och sköldkörteln. Från hypotalamus kommer tyreotropinfrisättande hormon (TRH) att utsöndras, vilket i sin tur stimulerar utsöndringen av tyreoideastimulernde hormon (TSH) från hypofysen. TSH kommer sedan att verka på sköldkörteln och styr produktionen av T3 och T4 (Howdeshell 2002).

Studier visar att brist på sköldkörtelhormoner under utvecklingen påverkar migrationen av nervceller i bland annat primära somatosensoriska cortex, hippocampus och hörselbarken (Ausó *et al*. 2004). Hur nervcellerna migrerar är viktigt för att de i slutändan ska hamna på rätt plats, vilket är nödvändigt för deras funktion. En felaktig migration av nervcellerna kommer att leda till brister i områdets funktion (Ausó *et al*. 2004). Låga halter av T4 hos modern har visats korrelera med låga resultat på Psychomotor developmental index scale (PDI) hos barnet (Pop *et al*. 1999). PDI mäter koordination, förståelse av objekt, imitation och tidig språkutveckling. Studier med samma skala över en treårs period visar att detta går att vända med högre halter av T4 senare under graviditeten även om de inledningsvis varit låga (Pop *et al.* 2003).

Bromerade flamskyddsmedlens effekt på sköldkörtelhormoner
Exponering för bromerade flamskyddsmedel påverkar halterna av T4 i navelsträngens blod (Abdelouahab *et al*. 2013). De vanligaste formerna av bromerade flamskyddsmedel som hittas är PBDE-47 och PBDE-99 och de hittas i 90 % av de undersökta kvinnorna (Abdelouahab *et al.* 2013). Genom att man har sett halter av de bromerade flamskyddsmedlen i navelsträngens blod så kan man dra slutsatsen att barnet tar del av de koncentrationer som modern har och att de har förmågan att påverka koncentrationerna av T4. Även andra steg i axeln kan påverkas av bromerade flamskyddsmedel, till exempel TSH som utsöndras från hypofysen. Gravida kvinnor med höga halter av bromerade flamskyddsmedel, har lägre halter av TSH (Chevrier

et al. 2010, Zota *et al*. 2011). Eftersom att produktionen av T3 och T4 sker i en axel med inblandning av hypotalamus, hypofysen och sköldkörteln så kommer lägre halter av TSH att få följdeffekter som sänker halterna av T3 och T4.

I blodet transporteras T3 och T4 på tyroxinbindande globulin (TBG) och transthyretin (TTR) (Zhou *et al*. 2006). OH-PBDE kan binda till TBG och TTR, vilket sker med högre affinitet vid fler bromatomer (Cao *et al*. 2010, Ren & Guo 2012). Detta på grund av starkare hydrofobiska interaktioner mellan proteinerna och OH-PBDE med fler bromatomer (Ren & Guo 2012). Ämnen som binder till TTR har förmågan att korsa moderkakan från modern till fostret, vilket innebär att moderns halter av bromerade flamskyddsmedel kan påverka fostrets sköldkörtelhormoner även genom att binda TTR (Meerts *et al*. 2002). Dessutom binder de bromerade flamskyddsmedlen med större affinitet till TTR till än till TBG (Cao *et al*. 2010), vilket gör dem mer benägna att överföras till fostret då TTR kan korsa moderkakan. 5-OH-BDE-47 har en högre affinitet till TTR än T3 och T4, samt binder till TTR på samma aktiva plats som T3 och T4 (Cao *et al*. 2010). Även om 5-OH-BDE- 47 har högst affinitet, så kan alla OH-PBDE binda till TTR och på så sätt överföras och störa T3 och T4 funktion (Cao *et al*. 2010).

OH-PBDE har även visats binda till receptorer för T3 och T4. Detta indikerar att de skulle kunna störa T3 och T4 funktion genom att konkurrera om bindning som agonist och påverka receptorn (Kitamura *et al*. 2008). PBDE- 209 och PBDE- 100 kan även minska transkription som förmedlas av sköldkörtelhormonreceptorerna genom att inducera dissociation av receptorerna. Detta kommer att inhibera bindande av T3 och T4 till receptorerna, vilket har visats störa formationen av dendriter hos purkinjeceller i nervsystemet (Ibhazehiebo *et al.* 2011). Formationen av förgreningar av dendriter är en viktig process under utvecklingen för att bilda kopplingar mellan nervceller. Purkinjeceller är de mest förekommande nervcellerna i cerebellum och de karakteriseras av dendriter som sprider sig till många platser, samt tar emot input från många olika former av nervceller och skickar sedan output från cerebellum.

Exponering för PBDE-99 minskar halterna av T3 och T4, dessa förmedlar uttrycket av *BDNF* (brain-derived neurotrophic factor) gener i hippocampus (Blanco *et al*. 2013a). *BDNF* är delaktig i att bilda synaptisk plasticitet genom reglering av proteinsyntes av till exempel ERK och CaMKII (Liao *et al.* 2007). Detta är bland annat delaktigt i LTP, så påverkan i hippocampus på dessa funktioner kan ge problem med minne och inlärning (Blanco *et al.* 2013b).

Oxidativ stress orsakad av bromerade flamskyddsmedel

Oxidativ stress är en obalans mellan oxiderande ämnen och antioxidanter, vilket leder till mer av reaktiva syreradikaler (ROS). ROS kan sedan skada molekyler, celler och ge följder som DNA mutationer och modifiering av lipider (Reuter *et al.* 2010). DNA skador, skador på mitokondrier eller aktivering av dödsreceptorer som rekryterar kaspaser och aktiverar dem kan alla leda till apoptos och är associerade med oxidativ stress (Liu *et al.* 2015). Exponering för PBDE har visats öka produktionen av ROS och därmed den oxidativa stressen (He *et al*. 2008, Chen *et al*. 2010, Park *et al*. 2014). För mycket apoptos eller på fel platser kan påverka utvecklingen och differentieringen av det centrala nervsystemet, även om en viss mängd apoptos är nödvändig för dess utveckling (Chen *et al*. 2010).

Belles *et al*. (2010) genomförde ett flertal olika beteendetester på vuxna individer av möss exponerade för PBDE-99. Dessa visade inga signifikanta beteendeförändringar, men visade dock på förändringar i cerebellum som följd av oxidativ stress. Exponering för PBDE-153 under utvecklingen leder däremot till beteendeförändringar så som minskat korttidsminne och försämrad spatial inlärning. Detta på grund av förändringar i hippocampus, där man sett ett minskat antal celler med ett mindre antal organeller och en lösare association mellan nervcellerna (Zhang *et al*. 2013). Det sker även mer apoptos i hippocampus efter exponering för PBDE-153 (He *et al*. 2008). Hippocampus är en struktur för minne och inlärning, samt är känsligare för oxidativ stress än cerebellum och cerebral cortex (Giordano *et al*. 2008, Cheng *et al*. 2009). Detta ger beteendeförändringar samt påverkan i andra strukturer som inte uppvisas i de vuxna individerna, vilket tyder på att strukturer så som hippocampus och cerebellum är olika känsliga under olika delar av utvecklingen.

PBDE metaboliter ökar superoxiddismutas (SOD) aktivitet och minskar glutationperoxidas (GSH) nivåer (Cheng *et al*. 2009, Zhong *et al*. 2011). SOD och GSH försvarar cellerna mot reaktivt syre, det vill säga de är antioxidanter. SOD katalyserar borttagning av O_2 och GSH metaboliserar peroxider som är en form av ROS. GSH har visats vara ett viktigt skydd mot ROS och möss som saknar gener för GSH blir mer känsliga för ROS och har en ökad mängd apoptotisk celldöd (Giordano *et al.* 2008). Effekterna av metaboliterna liknar detta tillstånd utan gener för GSH och verkar därmed med en liknande mekanism och ger celldöd till följd av ökad känslighet för ROS. SOD aktiviteten ökar som ett svar på den ökade oxidativa stressen, med tiden mattas aktiviteten av när SOD produktionen inte längre kan upprätthållas vid för hög oxidativ stress (Zhong *et al*. 2011).

PBDE-47 har visats öka produktionen av interleukin-6 (IL-6) och interleukin-8 (IL-8) i mänskliga celler från moderkakor (Park *et al*. 2014). IL-6 och IL-8 är cytokininer, vilka är ett tecken på inflammation. En inflammation i moderkakan har visats kunna ge många komplikationer under graviditeten så som förtidig födsel, missfall och preklampsi (havandeskapsförgiftning) (Agarwal *et al*. 2012, Park *et al*. 2014). ROS modulerar cytokininer så som IL-6 och IL-8, vilka då kan aktivera signalvägar som kan leda till celldöd(Cindrova-Davies *et al*. 2007, Reuter *et al*. 2010, Agarwal *et al.* 2012). I moderkakan skulle detta kunna vara farligt för fostret och ha en påverkan på hjärnans utveckling.

PBDE-47 ökar uttrycket av cytokrom c, uttrycket av kaspas-3 och destabiliserar mitokondriemembran och lysosomer. Dessa påverkar sedan varandras uttryck. Cytokrom c frisläpps från mitokondrier och har en funktion i apoptosen, samt ökar expressionen av kaspas-3 som är en utförare av apoptos (Liu *et al*. 2015). Destabilisering av mitokondriemembran och lysosomer, leder till att katepsin b utsöndras från lysosomerna. När katepsin b utsöndrats är den dels aktiv på mål i cytoplasman, men påverkar även de andra delaktiga ämnena och ökar halterna av cytokrom c och kaspas-3. Ökade nivåer av kaspas-3 leder i sin tur till aktivering av andra kaspaser och ökad mängd cytokrom c, vilket alla är delaktiga i apoptotiska signalvägar (Liu *et al*. 2015).

Förändringar i synaptisk plasticitet

PBDE-47 har visats ändra genexpression hos ett flertal olika gener involverade i mekanismer för synaptisk plasticitet. Exempel på dessa mekanismer är synaptisk signalering och utveckling, neurogenes, tillväxt av dendriter och axoner, guidning av axoner, syntes av neurotransmittorer och bildandet av synaptiska vesiklar (Suvorov & Takser, 2011). Förändringarna uttrycks som en minskad aktivitet hos transmembranreceptorer, ökad

aktivitet hos gener för ribosomala proteiner och överuttryckta gener för reglering av transkriptionsfaktorer, till exempel *Hnrnpl* (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L. gene) (Suvorov & Takser 2011). Denna transkriptionsfaktor är delaktig i mRNAs bildande och funktion (Suvorov & Takser 2011).

Exponering för PBDE-209 ger ökad mängd Ca-kalmodulinberoende proteinkinas II (CaMKII) och Gap-43 protein, men en minskad mängd BDNF i hippocampus (Viberg *et al*. 2008). Mindre BDNF i hippocampus under utvecklingen kan leda till förändrad bildning av synapser, då BDNF förmedlar överlevnad och tillväxt av axoner, synapsbildning och synapsfunktion (Cui 2006). Mer CaMKII kan leda till förändrad tillväxt av axoner och dendriter och på så sätt påverka kommunikationen mellan nervceller (Viberg *et al.* 2008). GAP-43 protein guidar axoner till rätt plats och styr bildandet av nya kopplingar, genom att GAP-43 protein finns i axonkäglor (Oestreicher *et al*. 1997). Dessa sitter på nybildade nervceller och kan genom filopodier röra sig mot eller bort från attraherande och repulsiva kemikalier.

Exponering för PBDE-99 ger både ökad och minskad expression av en rad olika proteiner som är inblandade i cytoskelettet. Kofilin, β-aktin och tau har alla en ökad expression (Alm *et al*. 2008). Kofilin är involverad i depolymerisering av aktin (Svitkina & Borisy 1999) och tau stabiliserar mikrotubili och har en roll i sjukdomsförloppet för Alzheimers sjukdom (Billingsley & Kincaid 1997). Cytoskelettets proteiner spelar en viktig roll i utvecklingsprocesser så som cellmigrering, proliferation och differentiering, men även en viktig roll i den vuxna hjärnans funktioner.

Långtidspotentiering (LTP)

LTP leder till förändringar i synapser som kan hålla i sig under en längre period, vilket ligger till grund för olika minnes- och inlärningsprocesser. LTP förmedlas genom NMDA receptorer för glutamat, samt genom stark elektrisk input från presynapsen som kan ge en depolarisering i postsynapsen. NMDA-receptorer blockeras av magnesiumjoner, för aktivering av receptorn krävs att glutamat binder samtidigt som depolariseringen är tillräckligt stark för att magnesiumjonen ska lossna. NMDA-receptorerna blir då permeabla för kalciumjoner och natriumjoner, vilket signalerar om LTP (Bliss *et al*. 1993). Detta leder till förändringar i postsynapsen genom aktivering av CaMKII som fosforylerar och gör AMPA receptorer för glutamat mer känsliga (Soderling & Derkach, 2000). Detta ger en starkare postsynaptisk respons för glutamat nästa gång det utsöndras.

Möss exponerade för PBDE-47 tio dagar efter födseln har lägre nivåer av LTP, vilket beror på ett minskat antal av subenheterna NR2B och GluR1 till receptorerna NMDA och AMPA (Dingemans *et al*. 2007). Detta förändrar sammansättningen av glutamatreceptorer och på så sätt blir det ett högre tröskelvärde för inducering av LTP (Dingemans *et al.* 2007). Andra studier har visat samma effekt för PBDE-209, samt att LTP kommer minska oavsett under vilken period i utvecklingen som man exponeras för PBDE-209 (Xing *et al*. 2009).

Kalcium som går in i cellen vid LTP kan binda till kalmodulin som aktiverar kvävemonoxid (NO) syntes, vilket i sin tur kommer att leda till mer cykliskt guanosinmonofosfat (cGMP) som är en sekundär budbärare i cellen. Exponering för PBDE-99 ökar funktionen av denna signalväg och man ser en ökning av både cGMP och kalmodulin (Llansola *et al*. 2007). Troligtvis verkar PBDE på kalmodulin som i sin tur ökar syntesen av NO, vilket kan leda till ökad nitrosylation där NO inkorporeras i proteiner och ger en ändrad funktion av proteiner

delaktiga i LTP (Llansola *et al.* 2007). Genom att LTP förmedlas via denna signalväg så kan detta leda till förändringar i processen bakom LTP, samt andra processer i kroppen vilka använder cGMP.

Diskussion

De bromerade flamskyddsmedlen kan ha en spridd påverkan på olika funktioner och det är tydligt att de kan påverka viktiga processer i hjärnan och under dess utveckling med ett flertal olika mekanismer (Tabell 1). Många av mekanismerna påverkar hippocampus och de inlärning- och minnesprocesser som strukturen förmedlar. Tydligt är även att flera av mekanismerna överlappar och ger liknande effekter. Dels har vi ofta den gemensamma effekten i hippocampus, dels har vi flera mekanismer som påverkar receptorer eller leder till mer kalciumjoner som i sin tur aktiverar signalvägar så som MAPK eller apoptos. Många mekanismer leder även till samma utfall som störningar i differentiering eller migration av nervceller. Detta tyder på att de bromerade flamskyddsmedlen kan ha en övergripande effekt på många system i kroppen och att många av dessa processer delar signalvägar.

Tabell 1. Sammanfattning av flamskyddsmedel, mekanism, konsekvenser och vart de verkar.

Plats	Flamskyddsmedel	Mekanism	Konsekvenser	Källa
Blod	OH-PBDE	Konkurrerans om bindning till TBG och TTR med T3 och T4	Problem med cellmigration	Cao *et al.* 2010, Ren & Guo 2012
Cerebellum	PBDE-209, PBDE-100	Minskad transkription från sköldkörtelhoromonreceptorer	Störningar i purkinjecellers förgreningar av dendriter	Ibhazehiebo *et al.* 2011
Hippocampus	PBDE-209	Högre koncentration av Ca^{2+},ökad expression av P38 MAPK	Påverkar minne och inlärning	Chen *et al.* 2010
Hippocampus	PBDE-47, PBDE-77, PBDE, 99	Ökad aktivitet hos ERK och MAPK	Påverkar minne och inlärning	Fan *et al.* 2010, Alvarez-Jaimes *et al.* 2005
Hippocampus	PBDE-153	Färre nikotinreceptorer	Problem med minne och inlärning	Viberg *et al.* 2003
Hippocampus	PBDE-99	Mindre av T3 och T4, stör BDNF uttryck	Problem med minne och inlärning	Blanco *et al.* 2013a
Hippocampus	PBDE-153	Oxidativ stress	Beteendeförändringar	Zhang *et al.* 2013
Hippocampus	PBDE-209	Ökning av CaMKII och GAP-43, mindre av BDNF	Förändringar i synapsbildning och axontillväxt	Viberg *et al.* 2008

Hippocampus	PBDE-47	Färre av NR2B och Glur1 subenheter för NMDA och AMPA	Lägre nivåer av LTP	Dingemans *et al.* 2007
Hippocampus	PBDE-99	Ökad syntes av cGMP och kalmodulin	Förändrad funktion hos proteiner delaktiga i LTP	Llansola *et al.* 2007
Moderkakan	PBDE-47	Ökad produktion av IL-6 och IL-8	Inflammation	Park *et al.* 2014
Nervceller	6-OH-PBDE-47	Fragmentation av cellkärnan, ökad mängd aktiva kaspaser	Färre nervceller	Li *et al.* 2013
Nervceller	PBDE-47	Färre 2α subenheter för GABA receptorer	Färre GABA receptorer	Bradner *et al.* 2013a
Nervceller	PBDE-47	Mindre av GABA syntetiserande GAD67	Färre nervceller med GABA	Bradner *et al.* 2013a
Nervceller	PBDE-99, OH-PBDE	Ändrad SOD och GSH aktivitet	Celldöd	Cheng *et al.* 2009, Zhong *et al.* 2011
Nervceller	PBDE-47	Ökat uttryck av cytokrom c, kaspas-3 och katepsin b	Celldöd	Liu *et al.* 2015
Nervceller	PBDE-99	Ökat uttryck av kofilin, β-aktin och tau	Förändringar i cellmigration, celldifferentiering och cellproliferation	Alm *et al.* 2008
Oligodendrocyter	6-OH-PBDE-47	Inhiberad differentiering	Störningar i myelinisering	Li *et al.* 2013
Prefrontala cortex	PBDE-47	Mer dopamin	Störningar i arbetsminne, uppmärksamhet och impulskontroll	Gee *et al.* 2011
Striatum	PBDE-71	Inhiberar DAT och VMAT2	Påverkar rörelser	Dreiem *et al.* 2010, Bradner *et al.* 2013b

En anledning till påverkan i hippocampus kan vara dess höga grad av plasticitet och att förändringar fortsätter ske in i vuxen ålder. Det sker en konstant förnyelse av nervceller under hela livet och det beräknas att 3,5 % av alla nervceller i hippocampus byts ut varje år (Spalding *et al*. 2013). Som tidigare nämnt så är områden i hjärnan under förändring känsligare än mer fasta strukturer, vilket skulle kunna vara orsaken bakom en frekvent påverkan i hippocampus. Dock kan denna påverkan ofta ses genom att det är relativt lätt att studera minne och inlärning. Det finns ett flertal olika tester man kan genomföra på möss för

att studera minne, det skulle på så sätt kunna vara att vi ser en stor påverkan på hippocampus då det är där vi kan testa och se effekterna på ett bra och tydlig sätt.

I många av studierna används högre doser än vad som är uppmätta i människor. Hur detta påverkar effekten är viktigt att ta hänsyn till när man diskuterar riskerna kring ett ämne. Generellt så har vi i Sverige och Europa lägre halter av bromerade flamskyddsmedel än i USA. En studie på hushåll i Sverige visar uppmätta högsta värden på 17 ng/g blod i blodprov (Karlsson *et al*. 2007). Däremot visar hushåll i USA halter hos modern på 60 ng/g blod, fadern 32 ng/g blod, barn på 5 år 143 ng/g blod och barn på 18 månader 233 ng/g blod (Fischer *et al*. 2006). I försök på möss ligger halterna ofta runt mg/g nivåer för att se tillräckligt tydliga effekter (Blanco *et al*. 2013, Bradner *et al*. 2013a) och är därmed högre än de man hittar i människor. Dock finns det studier som visar på risker vid lägre värden (Fan *et al.* 2010) samt att barn har uppmätt högre värden än vuxna och har en hjärna under utveckling, vilket gör dem känsligare. Dessutom måste man ta hänsyn till att vi utsätts för en blandning av olika ämnen som skulle kunna interagera. Hur detta påverkar är ännu relativt outforskat, men är en intressant aspekt då många av våra miljögifter kan ackumuleras och därmed kan vi samla på oss flera av dem. Studier har visat att PBDE och PCB kan påverka halterna av T4 på ett additivt sätt (Miller *et al*. 2012) och möjligheten för interaktion med ytterligare ämnen finns.

Även om direktiv från EU begränsar vår exponering för PBDE så förekommer de fortfarande. Under de senaste 30 åren har PBDE koncentrationerna i människor globalt blivit 100 gånger högre, vidare har människor i USA ungefär 20 gånger högre halter än i Europa (Hites 2004). Detta innebär att i vilken utsträckning bromerade flamskyddsmedel används faktiskt har en inverkan på halterna i människor, direktiv för användning och utfasande av PBDE kommer därför kunna ge resultat. Detta har man redan sett då många av de olika PBDE har minskat i koncentration i människor i Sverige (Darnerud *et al*. 2015). Frågan är bara hur lång tid det kommer att ta att få ner koncentrationerna och hur länge de nuvarande halterna kommer att kunna påverka och vara tillgängliga för oss. Simuleringar vid ett totalförbud som antogs träda in 2012 beräknar att det skulle ta till ungefär 2090 innan alla PBDE försvinner helt från system så som soptippar (Danon-Schaffer *et al*. 2013).

Ytterligare en aspekt att ta hänsyn till är att de bromerade flamskyddsmedlen faktiskt har en funktion, närmare bestämt att förhindra bränder. För att de ska sluta användas krävs att de ersätts, samt att riskerna med exponering ställs mot brandrisken. Det finns ett flertal nya alternativa flamskyddsmedel i bruk, men dessa har liknande struktur som de bromerade flamskyddsmedlen och skulle därmed kunna verka med liknande mekanismer. Exempel på några av de nya flamskyddsmedlen är 1,2-bis(2,4,6-tribromphenoxy)etan (BTBPE) som kan bioackumuleras, 2,3,4,5,6,-pentabromtoluen (PBT) som transporteras långa sträckor och 2-allyloxy-1,3,5-tribrombensen (TBP-AE) som har visats svår att bryta ner (Ezechias *et al*. 2014). Liknande effekter som ges av de bromerade flamskyddsmedlen har visats hos 2,4,6-tribromfenol (TBP) och tetrabrombisfenol A bis(2,3-dibrompropyl eter (TBBPA-BDBPE) som båda kan binda till TTR och konkurrera med T4 om bindningsplatser (Ezechias *et al*. 2014). Bis(2-etylhexyl)tetrabromftalat (BEH-TEBP) har visats skada DNA, hexabrombenzen (HBB) har visats reducera nivåerna av GSH och decabrombifenyl (BB209) kan aktivera acetylkolinreceptorer (Ezechias *et al.* 2014). Allt detta är sådant man redan visat att bromerade flamskyddsmedel kan påverka, men det saknas ännu kunskap om de nya flamskyddsmedlen som idag inte är under förbud eller reglering. Dock tyder de tidiga studierna på att de skulle kunna verka med liknande mekanismer.

Så även om PBDE är under utfasning, finns det fortfarande kvar i vår natur och i oss människor. Även om halterna ofta är lägre än de använda i studier, så finns det ändå en anledning till oro. Speciellt när barn generellt har de högsta värdena, samtidigt som de är mest känsliga för påverkan. Det kommer att dröja innan alla PBDE har försvunnit, men dagens reglering har gett resultat, då halterna i människor har minskat de senaste åren. Dock finns det goda anledningar att studera de nya flamskyddsmedlen, då de liknar PBDE i struktur samt har vissa liknande egenskaper som skulle kunna störa hjärnans funktion.

Tack

Tack till Lage Cerenius för handledning samt mina medstudenter Annie Hammar och Emil Östholm får värdefull återkoppling.

Referenser

Abdelouahab N, Langlois M-F, Lavoie L, Corbin F, Pasquier J-C, Takser L. 2013. Maternal and cord-Blood thyroid hormone levels and exposure to polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls during early pregnancy. American Journal of Epidemiology **178**: 701–713.

Agarwal A, Aponte-Mellado A, Premkumar BJ, Shaman A, Gupta S. 2012. The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. Reproductive Biology Endocrinology **10**: 49.

Alm H, Kultima K, Scholz B, Nilsson A, Andrén PE, Fex-Svenningsen Å, Dencker L, Stigson M. 2008. Exposure to brominated flame retardant PBDE-99 affects cytoskeletal protein expression in the neonatal mouse cerebral cortex. NeuroToxicology **29**: 628–637.

Alvarez-Jaimes L, Feliciano-Rivera M, Centeno-González M, Maldonado-Vlaar CS. 2005. Contributions of the mitogen-activated protein kinase and protein kinase c cascades in spatial learning and memory mediated by the Nucleus Accumbens. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics **314**: 1144–1157.

Arnsten AFT, Li B-M. 2005. Neurobiology of executive functions: Catecholamine influences on prefrontal cortical functions. Biological Psychiatry **57**: 1377–1384.

Ausó E, Lavado AR, Cuevas E, del Rey F, Morreale G, Berbel P. 2004. A moderate and transient deficiency of maternal thyroid function at the beginning of fetal neocorticogenesis alters neuronal migration. Endocrinology **145**:4037-4047.

Baba A, Yasui T, Fujisawa S, Yamada RX, Yamada MK, Nishiyama N, Matsuki N, Ikegaya Y. 2003. Activity-evoked capacitative Ca2+ entry: implications in synaptic plasticity. The Journal of Neuroscience **23**: 7737–7741.

Belles M, Alonso V, Linares V, Albina ML, Sirvent JJ, Domingo JL, Sanchez DJ. 2010. Behavioral effects and oxidative status in brain regions of adult rats exposed to BDE-99. Toxicology Letters **194**: 1–7.

Blanco J, Mulero M, Heredia L, Pujol A, Domingo JL, Sanchez DJ. 2013. Perinatal exposure to BDE-99 causes learning disorders and decreases serum thyroid hormone levels and BDNF gene expression in hippocampus in rat offspring. Toxicology **308**: 122–128.

Bliss TV, Collingridge GL. 1993. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. Nature **361**: 31–39.

Billingsley M, Kincaid R. 1997. Regulated phosphorylation and dephosphorylation of tau protein: effects on microtubule interaction, intracellular trafficking and neurodegeneration. Biochemical Journal **323**:577-591.

Bradner JM, Suragh TA, Caudle WM. 2013a. Alterations to the circuitry of the frontal cortex following exposure to the polybrominated diphenyl ether mixture, DE-71. Toxicology

312: 48–55.
Bradner JM, Suragh TA, Wilson WW, Lazo CR, Stout KA, Kim HM, Wang MZ, Walker DI, Pennell KD, Richardson JR, Miller GW, Caudle WM. 2013b. Exposure to the polybrominated diphenyl ether mixture DE-71 damages the nigrostriatal dopamine system: Role of dopamine handling in neurotoxicity. Experimental Neurology **241**: 138–147.
Buratovic S, Viberg H, Fredriksson A, Eriksson P. Developmental exposure to the polybrominated diphenyl ether PBDE 209: Neurobehavioural and neuroprotein analysis in adult male and female mice. Environmental Toxicology and Pharmacology **38**:570-585.
Cao J, Lin Y, Guo LH, Zhang AQ, Wei Y, Yang Y. 2010. Structure-based investigation on the binding of hydroxylated polybrominated diphenyl ethers with thyroxine transport proteins. Toxicology **277**:20-28.
Caudle WM, Richardson JR, Wang MZ, Taylor TN, Guillot TS, McCormack AL, Colebrooke RE, Di Monte DA, Emson PC, Miller GW. 2007. Reduced vesicular storage of dopamine causes progressive Nigrostriatal neurodegeneration. Journal of Neuroscience **27**: 8138–8148.
Chang L, Karin M. 2001. Mammalian MAP kinase signalling cascades. Nature **410**: 37–40.
Chao H-R, Tsou T-C, Huang H-L, Chang-Chien G-P. 2011. Levels of breast milk PBDEs from southern Taiwan and their potential impact on neurodevelopment. Pediatric Research **70**: 596–600.
Cheng J, Gu J, Ma J, Chen X, Zhang M, Wang W. 2009. Neurobehavioural effects, redox responses and tissue distribution in rat offspring developmental exposure to BDE-99. Chemosphere **75**: 963–968.
Chen J, Liufu C, Sun W, Sun X, Chen D. 2010. Assessment of the neurotoxic mechanisms of decabrominated diphenyl ether (PBDE-209) in primary cultured neonatal rat hippocampal neurons includes alterations in second messenger signaling and oxidative stress. Toxicology Letters **192**: 431–439.
Chevrier J, Harley KG, Bradman A, Gharbi M, Sjödin A, Eskenazi B. 2010. Polybrominated Diphenyl Ether (PBDE) flame retardants and thyroid hormone during pregnancy. Environmental Health Perspectives **118**:1444-1449.
Chwang WB, O'Riordan KJ, Levenson JM, Sweatt JD. 2006. ERK/MAPK regulates hippocampal histone phosphorylation following contextual fear conditioning. Learning & Memory **13**: 322–328.
Cindrova-Davies T, Yung H-W, Johns J, Spasic-Boskovic O, Korolchuk S, Jauniaux E, Burton GJ, Charnock-Jones DS. 2007. Oxidative Stress, gene expression, and protein changes induced in the human placenta during labor. The American Journal of Pathology **171**: 1168–1179.
Coburn CG, Curras-Collazo MC, Kodavanti PRS. 2008. In vitro effects of environmentally relevant polybrominated diphenyl ether (PBDE) congeners on calcium buffering mechanisms in rat brain. Neurochemical Research **33**: 355–364.
Cui Q. 2006. Actions of neurotrophic factors and their signaling pathways in neuronal survival and axonal regeneration. Molecular Neurobiology **33**: 155–179.
Danon-Schaffer MN, Mahecha-Botero A, Grace JR, Ikonomou M. 2013. Mass balance evaluation of polybrominated diphenyl ethers in landfill leachate and potential for transfer from e-waste. Science of The Total Environment **461–462**: 290–301.
Darnerud PO, Lignell S, Aune M, Isaksson M, Cantillana T, Redeby J, Glynn A. 2015. Time trends of polybrominated diphenylether (PBDE) congeners in serum of Swedish mothers and comparisons to breast milk data. Environmental Research **138**: 352–360.
Dingemans MML, Ramakers GM, Gardoni F, Kleef RGD, Bergman Å, Luca MD, Berg M, Westerink R, Vijverberg HP. 2007. Neonatal exposure to brominated flame retardant BDE-47 reduces Long-Term Potentiation and postsynaptic protein levels in mouse

Hippocampus. Environmental Health Perspectives **115**:865-870.
Dingemans MML, de Groot A, van Kleef RGDM, Bergman A, van den Berg M, Vijverberg HPM, Westerink RHS. 2008. Hydroxylation increases the neurotoxic potential of BDE-47 to affect exocytosis and calcium homeostasis in PC12 cells. Environmental Health Perspectives **116**: 637–643.
Domingo JL. 2012. Polybrominated diphenyl ethers in food and human dietary exposure: a review of the recent scientific literature. Food and Chemical Toxicology **50**: 238–249.
Dreiem A, Okoniewski RJ, Brosch KO, Miller VM, Seegal RF. 2010. Polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers alter striatal dopamine neurochemistry in synaptosomes from developing rats in an additive manner. Toxicological Sciences **118**: 150–159.
Dufault C, Poles G, Driscoll LL. 2005. Breif postnatal PBDE exposure alters learning and the cholinergic modulation of attention in rats. Toxicological Sciences **88**:172-180.
Ezechias M, Covino S, Cajthaml T. 2014. Ecotoxicity and biodegradability of new brominated flame retardants: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety **110**: 153–167.
Fan C-Y, Besas J, Kodavanti PRS. 2010. Changes in mitogen-activated protein kinase in cerebellar granule neurons by polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls. Toxicology and Applied Pharmacology **245**: 1–8.
Fischer D, Hooper K, Athanasiadou M, Athanassiadis I, Bergman Å. 2006. Children show highest levels of polybrominated diphenyl ethers in a California family of four: a case study. Environmental Health Perspectives **114**: 1581–1584.
Gee JR, Moser VC, McDaniel KL, Herr DW. 2011. Neurochemical changes following a single dose of polybrominated diphenyl ether 47 in mice. Drug and Chemical Toxicology **34**:213-219.
Giordano G, Kavanagh TJ, Costa LG. 2008. Neurotoxicity of a polybrominated diphenyl ether mixture (DE-71) in mouse neurons and astrocytes is modulated by intracellular glutathione levels. Toxicology and Applied Pharmacology **232**: 161–168.
Harrad S, Goosey E, Desborough J, Abdallah MA-E, Roosens L, Covaci A. 2010. Dust from U.K. primary school classrooms and daycare centers: the significance of dust as a pathway of exposure of young U.K. children to brominated flame retardants and polychlorinated biphenyls. Environmental Science & Technology **44**: 4198–4202.
Hendriks HS, Fernandes ECA, Bergman Å, Berg M van den, Westerink RHS. 2010. PCB-47, PBDE-47, and 6-OH-PBDE-47 differentially modulate human GABAA and α4β2 nicotinic acetylcholine receptors. Toxicological Sciences **118**: 635–642.
He P, He W, Wang A, Xia T, Xu B, Zhang M, Chen X. 2008. PBDE-47-induced oxidative stress, DNA damage and apoptosis in primary cultured rat hippocampal neurons. NeuroToxicology **29**: 124–129.
Herbstman JB, Sjödin A, Kurzon M, Lederman SA, Jones RS, Rauh V, Needham LL, Tang D, Niedzwiecki M, Wang RY, Perera F. 2010. Prenatal exposure to PBDEs and neurodevelopment. Environmental Health Perspectives **118**: 712–719.
Hites RA. 2004. Polybrominated diphenyl ethers in the environment and in people: A meta-analysis of concentrations. Environmental Science & Technology **38**: 945–956.
Howdeshell K. 2002. A model of the development of the brain as a construct of the thyroid system. Environmental Health Perspectives 110:337.
Ibhazehiebo K, Iwasaki T, Kimura-Kuroda J, Miyazaki W, Shimokawa N, Koibuchi N. 2011. Disruption of thyroid hormone receptor-mediated transcription and thyroid hormone-induced purkinje cell dendrite arborization by polybrominated diphenyl ethers. Environmental Health Perspectives **119**: 168–175.
Johnson GL, Lapadat R. 2002. Mitogen-activated protein kinase pathways mediated by ERK,

JNK, and p38 protein kinases. Science **298**: 1911–1912.
Karlsson M, Julander A, van Bavel B, Hardell L. 2007. Levels of brominated flame retardants in blood in relation to levels in household air and dust. Environment International **33**: 62–69.
Kemikalieinspektionen. 2007. Bromerade flamskyddsmedel. Kemikalieinspektionen, Stockholm.
Kitamura S, Shinohara S, Iwase E, Sugihara K, Uramaru N, Shigematsu H, Fujimoto N, Ohta S. 2008. Affinity for thyroid hormone and estrogen receptors of hydroxylated polybrominated diphenyl ethers. Journal of Health Science **54**: 607–614.
Kodovanti PR, Ward TR. 2005. Differential effects of commercial polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyl mixtures on intracellular signaling in rat brain in vitro. Toxicological Sciences **2**:952-962.
Lee LP, He J. 2010. Reductive debromination of polybrominated diphenyl ethers by anaerobic bacteria from soils and sediments. Applied and Environmental Microbiology **76**:794-802.
Linares V, Belles M, Domingo JL. 2015. Human exposure to PBDE and critical evaluation of health hazards. Archives of Toxicology **89**: 335–356.
Li T, Wang W, Pan YW, Xu L, Xia Z. A hydroxylated metabolite of flame-reterdant PBDE-47 decreases the survival, proliferation, and neuronal differentiation of primary cultured adult neural stem cells and interferes with signaling of ERK5 MAP kinase and neurotrophin 3. Toxicological Sciences **134**:111-124.
Liao L, Pilotte J, Xu T, Wong C, Edelman GM, Vanderklish P, Yates JR. BDNF induces widespread changes in synaptic protein content and up-regulates components of the translation machinery: an analysis using high-throughput proteomics. Journal of Proteome Research **6**:1059-1071.
Liu X, Wang J, Lu C, Zhu C, Qian B, Li Z, Liu C, Shao J, Yan J. 2015. The role of lysosomes in BDE 47-mediated activation of mitochondrial apoptotic pathway in HepG2 cells. Chemosphere **124**: 10–21.
Llansola M, Erceg S, Monfort P, Montoliu C, Felipo V. 2007. Prenatal exposure to polybrominated diphenylether 99 enhances the function of the glutamate–nitric oxide–cGMP pathway in brain in vivo and in cultured neurons. European Journal of Neuroscience **25**: 373–379.
Maren S. 2001. Neurobiology of Pavlovian fear conditioning. Annual Review of Neuroscience **24**: 897–931.
Mariussen E, Fonnum F. 2003. The effect of brominated flame retardants on neurotransmitter uptake into rat brain synaptosomes and vesicles. Neurochemistry International **43**: 533–542.
McLaughlin B, Pal S, Tran MP, Parsons AA, Barone FC, Erhardt JA, Aizenman E. 2001. p38 activation is required upstream of Potassium current enhancement and caspase cleavage in thiol oxidant-induced Neuronal apoptosis. The Journal of Neuroscience **21**: 3303–3311.
Meerts I, Assink Y, Cenjin PH, van den Berg JHJ, Weijers BM, Bergman A, Koeman JH, Brouwer A. 2002. Placental transfer of a hydroxylated polychlorinated biphenyl and effects on fetal and maternal thyroid hormone homeostasis in the rat. Toxicological Sciences 68:361-371.
Miller VM, Sanchez-Morrissey S, Brosch KO, Seegal RF. 2012. Developmental coexposure to polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers has additive effects on circulating thyroxine levels in rats. Toxicological Sciences **127**: 76–83.
Oestreicher AB, De Graan PNE, Gispen WH, Verhaagen J, Schrama LH. 1997. B-50, the growth associated protein-43: modulation of cell morphology and communication in the nervous system. Progress in Neurobiology **53**: 627–686.

Oheim M, Kirchhoff F, Stühmer W. 2006. Calcium microdomains in regulated exocytosis. Cell calcium microdomains and the fine control of cell function. Cell Calcium **40**: 423–439.
Park H-R, Kamau PW, Loch-Caruso R. 2014. Involvement of reactive oxygen species in brominated diphenyl ether-47-induced inflammatory cytokine release from human extravillous trophoblasts in vitro. Toxicology and Applied Pharmacology **274**: 283–292.
Pop VJ, Brouwers E, Vader HL, Vulsma T, van Baar A, de Vijlder JJ. 2003. Maternal hypothyroxinaemia during early pregnancy and subsequent child development: a 3-year follow-up study. Clinical Endocrinology **59**:282-288.
Pop VJ, Kuijipens JL, van Baar AL, Verkerk G, van Son MM, de Vijlder JJ, Vulsma T, Wiersinga WM, Drexhage HA, Vader HL. Low maternal free thyroxine concentrations during early pregnancy are associated with impaired pschycomotor development in infancy. Clinical Endocrinology **50**:149-155.
Qiu X, Bigsby RB, Hites RA. 2009. Hydroxylated metabolites of polybrominated diphenyl ethers in human blood samples from the United States. Environmental Health Perspectives **177**:93-98.
Ren XM, Guo LH. 2012. Assesment of the binding of hydroxylated polybrominated diphenyl ethers to thyroid hormone transport proteins using a site-specific fluorescence probe. Environmental Science & Technology **46**:4633-4640.
Represa A, Ben-Ari Y. 2005. Trophic actions of GABA on neuronal development. Trends in Neurosciences **28**:278-283.
Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. 2010. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? Free Radical Biology and Medicine **49**: 1603–1616.
Rice D, Barone S. 2000. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: Evidence from humans and animal models. Environmental Health Perspectives **108**: 511–533.
Schönwasser DC, Marais RM, Marshall CJ, Parker PJ. 1998. Activation of the mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase pathway by conventional, novel, and atypical protein kinase C isotypes. Molecular and Cellular Biology **18**: 790–798.
Shepard TH. 1967. Onset of function in human fetal thyroid and radioautographic studies from organ culture. Journal of Clinicl Endocrinology & Metabolism **27**:945-947.
Soderling TR, Derkach VA. 2000. Postsynaptic protein phosphorylation and LTP. Trends in Neurosciences **23**:75-80.
Spalding KL, Bergmann O, Alkass K, Bernard S, Salehpour M, Huttner HB, Boström E, Westerlund I, Vial C, Buchholz BA, Possnert G, Mash DC, Druid H, Frisén J. 2013. Dynamics of hippocampal neurogenesis in adult humans. Cell **153**:1219-1227.
Stapleton HM, Kelly SM, Pei R, Letcher RJ, Gunsch C. 2009. Metabolism of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) by human hepatocytes in vitro. Environmental Health Perspectives **117**: 197–202.
Stubbings WA, Harrad S. 2014. Extent and mechanisms of brominated flame retardant emissions from waste soft furnishings and fabrics: A critical review. Environment International **71**: 164–175.
Suvorov A, Takser L. 2011. Delayed response in the rat frontal lobe transcriptome to perinatal exposure to the flame retardant BDE-47. Journal of Applied Toxicology **31**: 477–483.
Svitkina TM, Borisy GG. 1999. Arp2/3 complex and actin depolymerizing factor/cofilin in dendritic organization and treadmilling of actin filament array in lamellipodia. The Journal of Cell Biology **145**: 1009–1026.
Tornkvist A, Glynn A, Aune M, Darnerud PO, Ankarberg E. 2011. PCDD/F, PCB, PBDE,

HBCD and chlorinated pesticides in a Swedish market basket from 2005-levels and dietary intake estimations. Chemosphere **2**:193-199.

Viberg H, Fredriksson A, Eriksson P. 2003. Neonatal exposure to polybrominated diphenyl ether (PBDE 153) disrupts spontaneous behaviour, impairs learning and memory, and decreases hippocampal cholinergic receptors in adult mice. Toxicology and Applied Pharmacology **192**: 95–106.

Viberg H, Johansson N, Fredriksson A, Eriksson J, Marsh G, Eriksson P. 2006. Neonatal exposure to higher brominated diphenyl ethers, hepta-, octa-, or nonabromodiphenyl ether, impairs spontaneous behavior and learning and memory functions of adult mice. Toxicological Sciences **92**: 211–218.

Viberg H, Mundy W, Eriksson P. 2008. Neonatal exposure to decabrominated diphenyl ether (PBDE 209) results in changes in BDNF, CaMKII and GAP-43, biochemical substrates of neuronal survival, growth, and synaptogenesis. NeuroToxicology **29**: 152–159.

Wise RA. 2004. Dopamine, learning and motivation. Nature Reviews Neuroscience **5**: 483–494.

Woolf NJ, Butcher LL. 2011. Cholinergic systems mediate action from movement to higher consciousness. Behavioural Brain Research **221**: 488–498.

Xing T, Chen L, Tao Y, Wang M, Chen J, Ruan D-Y. 2009. Effects of decabrominated diphenyl ether (PBDE 209) exposure at different developmental periods on synaptic plasticity in the dentate gyrus of adult rats in vivo. Toxicological Sciences **110**: 401–410.

Zhang H, Li X, Nie J, Niu Q. 2013. Lactation exposure to BDE-153 damages learning and memory, disrupts spontaneous behavior and induces hippocampus neuron death in adult rats. Brain Research **1517**: 44–56.

Zhong YF, Wang LL, Yin LL, An J, Hou ML, Zheng KW, Zhang XY, Wu MH, Yu ZQ, Sheng GY, Fu JM. 2011. Cytotoxic effects and oxidative stress response of six PBDE metabolites on human L02 cells. Journal of Environmental Science and Health Part a-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering **46**: 1320–1327.

Zota AR, Park JS, Wang Y, Petreas M, Zoeller RT, Woodruff TR. 2011. Polybrominated diphenyl ethers, hydroxylated polybrominated diphenyl ethers, and measures of thyroid function in second trimester pregnant women in California. Environmental Science & Technology **45**:7896-7905.