

BF  
20.5  
UL  
2001  
C231

JEAN-FRANÇOIS CANTIN

**NEUROTOXICITÉ DU MERCURE MÉTHYLÉ : EFFETS PROTECTEURS DU  
SÉLÉNIUM PENDANT LE DÉVELOPPEMENT PRÉNATAL MURIN ?**

Mémoire  
présenté  
à la Faculté des études supérieures  
de l'Université Laval  
pour l'obtention  
du grade de maître en psychologie (M. Ps.)

École de Psychologie  
FACULTÉ DES SCIENCES SOCIALES  
UNIVERSITÉ LAVAL

FÉVRIER 2001

© Jean-François Cantin, 2001



## Résumé

L'exposition au mercure méthylé (MeHg) a des effets neurotoxiques sur le développement prénatal et postnatal de l'enfant qui pourraient, selon certaines hypothèses récentes, être contrecarrés par le sélénium contenu dans certains aliments. L'objectif principal de la présente recherche est de tester cette prédiction chez un modèle animal de l'exposition prénatale au MeHg. Elle utilise six groupes de 10 souris chacun : chez trois de ces groupes, les souris sont nées de mères exposées au MeHg par gavage pendant la gestation ; chez les trois autres groupes, les souris sont nées de mères non exposées à cette substance neurotoxique. Les mères exposées et non exposées au MeHg étaient soumises également à une diète avec une teneur faible, normale ou élevée en sélénium. Les souris des six groupes ont été testées dans des épreuves faisant appel aux fonctions motrices (Rotarod), hippocampiques et striatales (Labyrinthe radial), frontales (Labyrinthe en T standard), visuoperceptives (discrimination visuelle dans le Labyrinthe en Y) et de néophobie environnementale. Les résultats montrent que les souris exposées au MeHg présentent un retard d'apprentissage temporaire de la coordination motrice dans la tâche de Rotarod alors qu'elles sont plus actives et consomment moins de nourriture dans l'Open Field. Aucune différence significative entre les groupes n'est observée quant aux fonctions frontales. Les résultats obtenus dans le Labyrinthe radial montrent un effet du sélénium et une interaction significative entre le MeHg et le sélénium sur la mémoire de travail alors que seul le MeHg a un effet sur la mémoire de référence. Étrangement, les souris exposées au MeHg commettent significativement moins d'erreurs de mémoire de référence que les souris non exposées. L'ensemble des déficits observés suite à une exposition prénatale au MeHg ne peut s'expliquer par la présence d'anomalies visuoperceptives puisqu'aucun effet du MeHg et de sa combinaison avec le sélénium n'est observé lors des tests visant à vérifier l'intégrité de ces fonctions.

## AVANT-PROPOS

La réalisation de ce mémoire a été rendue possible grâce à l'aide précieuse de mes directeurs de recherche, Monsieur François Y. Doré et Madame Sonia Goulet. Je vous remercie pour votre grande disponibilité, votre souci de la qualité et votre enthousiasme. L'excellente supervision à laquelle j'ai eu droit au cours des deux dernières années m'a permis d'acquérir et de développer des compétences et une confiance qui me seront très utiles dans la poursuite de mes études doctorales.

Je tiens aussi à remercier mes collègues de travail, Thierry Daigle, Philippe-Olivier Harvey, Anne Gallagher, Philippe Lapointe et Sophie Côté, qui ont participé au projet avec beaucoup d'ardeur et de dévouement. Les longues heures d'expérimentation passaient beaucoup plus vite en votre compagnie.

Finalement, je remercie tous mes amis pour leur encouragement et leur patience ainsi que mes parents, Suzanne et Guy, pour leur support inconditionnel depuis toujours.

Jean-François Cantin

5 février 2001

## TABLE DES MATIÈRES

	<u>Page</u>
RÉSUMÉ.....	i
AVANT-PROPOS.....	ii
TABLE DES MATIÈRES.....	iii
LISTE DES FIGURES ET DES ILLUSTRATIONS.....	v
INTRODUCTION.....	1
Intoxication des populations par le mercure.....	1
Effets neurologiques du mercure méthylé chez l'humain.....	2
La vulnérabilité des fœtus.....	2
Les avantages de la modélisation animale.....	4
Effets du mercure méthylé chez le rat.....	4
Effets tératogènes et comportementaux du mercure méthylé chez la souris.....	6
Effets neurologiques du mercure méthylé chez la souris.....	8
Effet potentiel du sélénium.....	9
Objectif de la recherche.....	10
MÉTHODE.....	11
Sujets.....	11
Matériel.....	11
Procédure.....	13
RÉSULTATS.....	16
Apprentissage moteur dans le Rotarod.....	16
Discrimination visuelle dans le Labyrinthe en Y.....	18

Exploration et néophobie alimentaire dans l'Open Field.....	19
Alternance spatiale dans le Labyrinthe en T.....	22
Mémoire de travail et mémoire de référence spatiales dans le Labyrinthe radial.....	24
DISCUSSION.....	26
Apprentissage de la coordination motrice.....	26
Effets au plan visuel.....	27
Exploration et néophobie.....	28
Alternance spatiale dans le Labyrinthe en T.....	29
Mémoire de travail et mémoire de référence spatiale dans le Labyrinthe radial.....	30
Suggestions pour des recherches futures.....	31
Conclusion.....	32
ANNEXE.....	35
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	37

## LISTE DES FIGURES

1. Latences moyennes de chute (sec) dans le Rotarod au cours des quatre sessions quotidiennes de cinq essais.....	17
2. Pourcentages moyens de réussites dans l'apprentissage de la discrimination visuelle lors du premier bloc de deux sessions avec correction (C1) et des trois blocs subséquents.....	18
3. Nombres de carrés traversés au total dans l'Open Field.....	19
4. Nombres de carrés centraux traversés dans l'Open Field.....	20
5. Quantités de nourriture ingérée (g) en fonction de la nouveauté.....	21
6. Pourcentages de réussites en fonction des blocs de 20 essais lors de l'entraînement sans délai au Labyrinthe en T.....	22
7. Pourcentages de réussites en fonction des délais lors du test dans le Labyrinthe en T.....	23
8. Nombres d'erreurs de mémoire de travail dans le Labyrinthe radial au cours des cinq blocs de deux sessions.....	24
9. Nombres d'erreurs de mémoire de référence dans la Labyrinthe radial au cours des cinq blocs de deux sessions.....	26

## ANNEXE : LISTE DES ILLUSTRATIONS DES APPAREILS UTILISÉS

1. Rotarod.....	35
2. Labyrinthe en Y.....	35
3. Open Field.....	36
4. Labyrinthe en T.....	36
5. Labyrinthe radial.....	36

## **Introduction**

### **Intoxication des populations par le mercure**

Le mercure est l'un des polluants de l'environnement les plus répandus. Ses effets tératogènes et neurotoxiques ont d'abord été mis en évidence dans les années '50 à Minamata, au Japon (Watanabe & Satoh, 1996). Les poissons et les fruits de mer de la baie de Minamata, dont se nourrissait la population de cette région, avaient été contaminés par du mercure déversé dans la baie par une usine de produits chimiques. Bien que la concentration de mercure dans l'eau ait été relativement faible, celle contenue dans les organismes aquatiques était élevée et donna lieu à un syndrome maintenant connu sous le nom de « maladie de Minamata ». Un autre cas souvent cité d'intoxication au mercure est celui de l'Iraq où le grain servant à fabriquer le pain était traité au mercure (Doi, 1979). Au cours de trois accidents survenus en Iraq entre 1955 et 1972 (WHO, 1990), on a dénombré 6530 victimes dont 459 décès (Watanabe & Satoh, 1996). Des intoxications au mercure ont aussi été rapportées au Royaume-Uni et au Canada (Watanabe & Satoh, 1996), en Suède (Engleson & Heiner, 1952), en Russie (Bakulina, 1968) et au Nouveau-Mexique (Pierce et al., 1972; Snyder, 1971, 1972).

Le mercure est un polluant encore très répandu et il existe présentement des risques de contamination. En 1990, l'Organisation Mondiale de la Santé mentionnait que le mercure méthylé constitue une menace de santé publique importante en raison de sa présence dans les fruits de mer et les poissons. Une concentration particulièrement élevée de mercure a été décelée dans certains cours d'eau du Canada et des États-Unis (Takeuchi, 1979). Par exemple, dans le bassin Owyhee, en Oregon, les poissons analysés contenaient en moyenne 0,75 mg/kg, ce qui excède la norme de 0,6 mg/kg considérée comme sécuritaire par la US Environmental Protection Agency (EPA) (Neumann, Kaufman, & Gilroy, 1997). En Amérique du Sud, dans un bassin de l'Amazonie, le taux moyen de mercure dans les tissus des poissons était de 0,69 mg/kg (Malm et al., 1995). Chez les Inuits du Groenland, 84% des mères présentaient, entre 1982 et 1988, des concentrations de MeHg sanguin supérieures à la limite tolérable de 23 µg/l déterminée par l'Organisation Mondiale de la Santé (Hansen, Tarp, & Bohm, 1990). Cette population est fortement exposée au MeHg car elle consomme beaucoup de viande de baleine. De plus, les données d'études récentes évaluant l'impact d'une exposition au MeHg par la consommation de

poissons, de crustacés et de fruits de mer suggèrent la présence d'effets nocifs à des niveaux d'exposition précédemment considérés comme sécuritaires (Mahaffey, 1999).

### **Effets neurologiques du mercure méthylé chez l'humain**

Chez les humains, les symptômes caractéristiques d'une intoxication au MeHg sont principalement neurologiques et incluent la faiblesse, l'apathie, la paresthésie, l'ataxie cérébelleuse, la constriction du champ visuel, des problèmes d'audition et des troubles mentaux (Su & Okita, 1976). Chez les enfants exposés prénatalement au MeHg, les symptômes neurologiques principaux sont des troubles mentaux, l'ataxie, l'altération de la démarche, des troubles du langage et des difficultés associées à la mastication et à la déglutition des aliments (Chang & Guo, 1998). Dans les cas d'intoxication survenus à Minamata et en Iraq, des analyses post-mortem effectuées sur des enfants intoxiqués ont montré que leurs systèmes nerveux présentaient des anomalies développementales sévères caractérisées par des neurones dysplastiques (modification de la forme, du volume ou du fonctionnement) et hétérotopiques (emplacement anormal) suggérant une maturation, une croissance et une migration neuronale perturbées (Chang & Guo, 1998). Des destructions massives du cervelet, qui serait la région la plus vulnérable à une exposition au mercure méthylé (Chang, Wade, Pounds, & Reuhl, 1980; Murakami, 1972), du cortex cingulaire, du corps calleux et des ganglions de la base ont été fréquemment observées dans les tissus prélevés chez les victimes de Minamata. Selon Kobayashi, Yuyama, Matsusaka, Takeno et Yanagiya (1980), l'hypothalamus et la moëlle épinière seraient aussi affectés.

### **La vulnérabilité des foetus**

Les foetus sont beaucoup plus vulnérables à l'exposition au MeHg que les organismes adultes (Annau & Cuomo, 1988), bien que ces derniers ne soient pas à l'abri de déficits causés par une exposition chronique (Rice, 1996). À Minamata, des mères légèrement symptomatiques ont donné naissance à des enfants sévèrement affectés. Les transferts transplacentaires et mammaires constituent les deux principales voies d'exposition pouvant infliger des changements congénitaux et néonataux dans le système nerveux.



En comparant les niveaux de mercure dans le sang maternel et dans celui extrait du cordon ombilical, Kunhert, Kunhert et Erhard (1981) ont montré qu'il y a 30 % plus de MeHg dans les érythrocytes du sang fœtal que dans les érythrocytes du sang maternel. Dans le cerveau du fœtus, la concentration de mercure est au moins deux fois plus élevée que dans le cerveau de la mère. Contrairement à l'adulte, le fœtus ne possède pas la capacité de déméthyliser le mercure, d'où sa concentration plus élevée dans le cerveau. Ainsi, le mercure absorbé de façon transplacentaire n'est pas, ou seulement très lentement, excrété (Nielsen & Andersen, 1992). Les cellules nerveuses du fœtus en développement seraient donc particulièrement vulnérables. Des changements pathologiques cérébraux et des déficits neurologiques constituent effectivement les premières observations recueillies chez les enfants nés de mères exposées au MeHg au Japon et en Iraq.

En plus du transfert placentaire, l'enfant en développement peut aussi être exposé au mercure par le lait maternel. Amin-Zaki et al. (1974) rapportent que l'enfant allaité peut présenter un taux de mercure sanguin excédant 200 ppm, ce qui correspond au niveau toxique minimum chez un adulte, lorsque la mère subit une exposition substantielle au MeHg. Des études de Grandjean, Jorgensen et Weihe (1994) montrent que le taux de mercure dans les cheveux des enfants augmente avec la durée de la période d'allaitement. De plus, une augmentation de l'intervalle de temps entre le sevrage et l'échantillonnage des cheveux n'est pas associée à une baisse de la concentration de mercure, ce qui suggère une élimination lente ou absente de MeHg.

Puisque les fœtus sont beaucoup plus vulnérables à l'exposition au MeHg que les adultes, plusieurs chercheurs se sont intéressés au développement des enfants à la suite d'une exposition à cet agent toxique. Parmi ceux-ci, Grandjean et al. (1997) ont mené une étude auprès de 917 enfants âgés d'environ 7 ans et demeurant dans les Iles Féroé, au nord de l'Écosse. Cette étude a mis en évidence une variété de dysfonctions neuropsychologiques reliées au mercure. Ces déficits apparaissent dans le langage, l'attention, la mémoire et, dans une moins grande mesure, dans les fonctions visuospatiales et motrices. Les effets de l'exposition prénatale au mercure sur les fonctions cérébrales paraissent ainsi étendus et, constat particulièrement troublant, des dysfonctions hâtives sont détectables à des niveaux d'exposition au MeHg considérés comme sécuritaires en vertu des normes environnementales actuelles.

## **Les avantages de la modélisation animale**

Bien que les recherches mentionnées précédemment sur les populations humaines exposées au MeHg aient permis d'acquérir une certaine connaissance des effets de cet agent toxique, l'utilisation de modèles animaux, principalement les rongeurs, a permis d'étudier de façon beaucoup plus précise et systématique ces effets neurotoxiques. Les avantages du recours à des modèles animaux dans l'étude des effets neurocomportementaux du mercure sont nombreux. Il est possible de soumettre les modèles à une grande variété de modes d'exposition (par injection, par l'eau ou par gavage intragastrique), de périodes d'exposition (avant, pendant ou après la gestation; de façon aiguë ou chronique) et à différentes doses. De plus, le fait d'exercer un contrôle sur les périodes d'expérimentation permet d'évaluer les effets du mercure à différentes étapes du développement des animaux. L'utilisation d'un modèle animal favorise aussi un accès rapide et direct aux données histochimiques. Celles-ci procurent des informations précises sur les effets neurochimiques engendrés par le mercure méthylé sur le cerveau. Ainsi, le contrôle de l'exposition au mercure et de la période d'expérimentation, de même que l'analyse post-mortem des structures affectées par cet agent, permettent d'établir un parallélisme entre plusieurs informations primordiales à la compréhension de la toxicité associée au mercure.

À la suite d'une recension exhaustive des écrits, Burbacher, Rodier et Weiss (1990) concluent que la neurotoxicité causée par le mercure méthylé chez l'humain et les animaux présente des similitudes remarquables sur les plans comportementaux et anatomiques lors de fortes expositions, de même que des effets neurocomportementaux similaires lorsque des catégories fonctionnelles (motrices, sensorielles, cognitives, etc.) comparables sont mesurées.

### **Effets du mercure méthylé chez le rat**

Les effets du mercure méthylé chez le rat sont ambigus, probablement parce qu'il est difficile de comparer des protocoles différents (doses et expositions variables) et/ou des souches de rats différentes. Sur le plan développemental, Goldey, O'Callaghan, Stanton, Barone et Crofton (1994) rapportent que l'intoxication aiguë par injection de mercure méthylé produit une réduction du nombre de rejetons par portée et du poids à la naissance (doses de 1, 2 et 4 mg/kg

aux jours 6 à 15 de gestation), alors qu'Eccles et Annau (1982) n'observent pas de diminution du poids à la naissance chez des rats dont les mères ont reçu une dose de 5 ou 8 mg/kg de mercure méthylé au jour 8 ou 15 de la gestation.

Sur le plan moteur, des études indiquent que les réflexes des rats ne sont pas affectés (Buelke-Sam et al., 1985; Mottet, 1974; Sobotka, Cook, & Brodie, 1974), alors qu'une autre montre le contraire (Olson & Boush, 1975).

Sur le plan comportemental, Fredriksson et al. (1992) obtiennent une corrélation négative entre la dose de mercure administrée et la fréquence d'exploration verticale (redressement sur les pattes arrière) ; plus la dose administrée est élevée, moins les comportements exploratoires sont nombreux. Par contre, Eccles et Annau (1982) observent une plus grande activité exploratoire dans un Open Field jusqu'au jour 21 postnatal chez des rats dont les mères ont été gavées de mercure méthylé que chez des rats contrôles. Certains auteurs ont noté une diminution de l'activité spontanée suite à une exposition au mercure méthylé chez les femelles (Schalock, Brown, Kark & Menon, 1981) ou chez les mâles (Buelke-Sam et al., 1985), alors que d'autres n'ont mis en évidence aucun changement (Cuomo, Ambrosi, Annau, Cagiano, Brunello, & Racgni, 1984) ou encore, l'effet inverse, c'est-à-dire une augmentation de l'activité chez les sujets traités (Eccles & Annau, 1982).

Sur le plan cognitif, des troubles d'apprentissage et de mémoire sont manifestes chez des rejetons de 7 à 17 jours nés de mères exposées à des doses quotidiennes de 2 ppm de MeHg du jour 0 de gestation jusqu'à la fin de la période d'expérimentation (Olson & Boush, 1975). D'un autre côté, Goldey, O'Callaghan, Stanton, Barone et Crofton (1994) n'obtiennent aucun de ces déficits avec des doses de 1, 2 et 4 mg/kg administrées prénatalement de façon aiguë aux jours 6 à 15 de gestation. Par ailleurs, le mercure modifierait l'activité du système cholinergique chez le rat (Cagiano et al., 1990 ; Eccles & Annau, 1982 ; Hugues & Sparber, 1978), système qui serait impliqué dans l'apprentissage spatial (Fibiger, 1991). Par contre, Rossi, Ahlbom, Ogren, Nicotera et Ceccatelli (1997) soutiennent que l'acquisition et la rétention de l'information ne sont pas affectées chez des rats exposés à de faibles doses de mercure méthylé (0,5 mg/kg) du jour 7 de la

gestation au jour 7 de la lactation, suggérant l'absence d'un changement dans le système cholinergique chez les rats traités au MeHg.

Ces études susmentionnées sur les effets du mercure méthylé chez le rat obtiennent des résultats fort divergents. Par opposition, les observations recueillies chez la souris sont plus concordantes d'une étude à l'autre, laissant supposer qu'il s'agirait là d'un meilleur modèle pour parvenir à mieux cerner les effets neurotoxiques du mercure. De plus, chez l'humain, le ratio de mercure entre le cerveau et le sang à la suite d'une exposition au mercure méthylé (2,5) est plus près de celui mesuré chez les souris (1,2) que chez les rats (0,06) (Magos, 1987).

### **Effets tératogènes et comportementaux du mercure méthylé chez la souris**

Sur le plan développemental, Spyker et Smithberg (1972) observent un retard de croissance, un retard du développement cognitif, des malformations congénitales et un taux de mortalité anormalement élevé chez deux souches de souris dont les mères ont été soumises à une injection unique de 0, 2, 4 ou 8 mg/kg de mercure méthylé entre les jours 6 à 13 de gestation. Le mercure méthylé semble produire des effets différents selon la souche, la dose de mercure et le stade du développement embryonnaire et ne crée aucun effet notable chez les femelles en gestation. Plusieurs chercheurs (Chang & Guo, 1998 ; Hughes & Annau, 1976 ; Spyker & Smithberg, 1972) ont confirmé par la suite que l'intoxication aiguë par injection de mercure méthylé produit une réduction du nombre de rejetons par portée et du poids mesuré à la naissance (doses variant de 0 à 10 mg/kg).

Sur le plan moteur, Tanimura, Ema et Kihara (1980) ne notent aucun changement dans les réflexes chez des souris âgées de 4 à 21 jours suite à une exposition prénatale intragastrique de 0,4 ou 4 mg/kg/jour du jour 15 de la gestation jusqu'au sevrage. Un léger retard dans le développement des réflexes est par ailleurs observé chez des souris âgées de 1, 3 et 8 jours à la suite d'une exposition prénatale sous-cutanée de 6 mg/kg au jour 9 de la gestation (Sato, Yasuda & Shimai, 1985). Un retard de développement dans l'habileté à nager a été démontré pour la première fois par Spyker, Sparber et Goldberg (1972) chez des souris exposées à 5,4 mg/kg aux jours 7 ou 9 de gestation, puis reproduit par Tanimura, Ema, et Kihara (1980) chez des souris

femelles âgées de 10 jours et exposées à 0,4 ou 4 mg/kg du jour 15 de gestation jusqu'au sevrage. De son côté, l'étude de Berthoud, Garman et Weiss (1976) montre que les souris mâles exposées postnatalement à des doses quotidiennes de 0, 0,25, 1 et 4 mgHg/kg par administration intragastrique chronique pendant une période maximale de 60 jours éprouvent des difficultés de coordination motrice comparativement aux souris contrôles. Récemment, Watanabe, Yin, Kasanuma, et Satoh (1999) ont observé que le mercure méthylé retarde significativement le développement de l'habileté de la souris à se repositionner sur ses pattes après avoir été tournée sur le dos et tend à retarder le développement de la marche suite à une exposition à 0, 5 ou 9 mg/kg de mercure méthylé aux jours 12 à 14 de la gestation.

Sur le plan comportemental, l'activité spontanée chez les souris exposées au MeHg est généralement diminuée. Dans les tests d'Open Field, deux expériences utilisant des souris de même souche mettent en évidence des résultats comparables, notamment une latence d'exploration plus grande, une diminution de la miction et une augmentation des comportements de retrait (Spyker, Sparber, & Goldberg, 1972; Su & Okita, 1976). Spyker, Sparber et Goldberg observent aussi, chez des rejetons âgés de 30 jours, une hypoactivité et des dysfonctions comportementales dans un Open Field à la suite d'une exposition de la mère à une dose unique de 5,4 mg/kg de mercure méthylé aux jours 7 ou 9 de la gestation. Dans l'étude de Kim, Nakai, Kasanuma, et Satoh (2000), deux souches de souris sur trois présentent une diminution de l'activité locomotrice dans un Open Field. Ces souris mâles avaient été exposées au mercure méthylé prénatalement (3 x 3 mg/kg) aux jours 12 à 14 de gestation. Yin, Watanabe, Inaba et Satoh (1997) ont rapporté une baisse d'activité significative chez les femelles dans un Open Field à la suite d'une exposition prénatale au mercure méthylé. Morganti, Lown, Salvaterra et Massaro (1976) obtiennent une corrélation négative entre la dose de mercure administrée et la fréquence d'exploration verticale (redressement sur les pattes arrière) ; plus la dose administrée est élevée, moins les comportements exploratoires sont nombreux. Selon Su et Okita (1976), les souris exposées à une dose de 8 ou 12 mg/kg de mercure méthylé administrée par injection au jour 10 de la gestation montrent une forte réduction de l'activité motrice spontanée (vitesse et fréquence des mouvements ambulatoires). Cependant, cette hypoactivité est temporaire puisque les groupes traités avec ces doses présentent, après quelques semaines, une activité motrice normale. Par

contre, le mercure méthylé ne semble avoir aucun effet sur l'activité motrice de souris exposées à une dose de 6 mg/kg.

Sur le plan cognitif, Koji (1996) note chez des souris exposées à une dose de 6 mg/kg de MeHg pendant sept jours après la naissance que le comportement d'alternance dans le Labyrinthe en T, tâche évaluant les fonctions frontales, est supprimé. En plus des déficits d'apprentissage et de mémoire, des problèmes d'attention, un processus mis en jeu dans la plupart des tâches cognitives utilisées avec les modèles animaux, sont observés par plusieurs chercheurs (Elsner, 1986 ; Elsner, Suter, Ulbrich & Schreiner, 1986 ; Hughes & Annau, 1976).

### **Effets neurologiques du mercure méthylé chez la souris**

Des souris exposées périnatalement au mercure méthylé présentent des anomalies neuroanatomiques (Annau & Cuomo, 1988; Chang & Guo, 1998). Une dégénérescence des neurones du striatum, du cortex cérébral, du thalamus et de l'hypothalamus a été mesurée chez des souris mâles exposées au mercure méthylé pendant 60 jours (Berthoud, Garman & Weiss, 1975). Le cervelet est aussi une région du cerveau vulnérable à la toxicité du mercure méthylé (Vandewater, Racz, Norris, & Buncel, 1983). Ces altérations du développement morphologique seraient responsables des retards d'apprentissage et de mémoire qui affectent ultérieurement l'organisme de façon permanente.

Vandewater, Racz, Norris et Buncel (1983) observent, chez des souris exposées postnatalement à 10 mg/kg de MeHg pendant un à neuf jours, qu'il n'y a pas de corrélation entre la distribution du MeHg dans le cerveau et la lésion structurale de celui-ci. Ainsi, la sensibilité des différentes régions du cerveau serait différente et la biotransformation pourrait jouer un rôle dans la médiation de la neurotoxicité du mercure méthylé. De plus, selon Takeuchi (1968), le MeHg endommagerait prioritairement les cellules de petites dimensions, ce qui pourrait en partie expliquer les différences de vulnérabilité entre les régions cérébrales.

En plus de ces altérations neuroanatomiques, des anomalies neurochimiques sont aussi présentes suite à une exposition au mercure méthylé. Une diminution d'acétylcholine (ACh) dans

le striatum et le cortex cérébral est notée chez des souris exposées postnatalement au mercure méthylé sur une longue période (5 mg/kg/jour) (Kobayashi et al., 1980). Selon ces auteurs, cette altération de la fonction cholinergique pourrait contribuer partiellement à la neurotoxicité associée au mercure méthylé. Puisque le striatum et le cortex cérébral contiennent les faisceaux cholinergiques importants (Kobayashi, Yuyama, Matsusaka, Takeno, & Yanagiya, 1980), une altération du métabolisme de l'ACh peut causer d'importantes dysfonctions cérébrales (Hingtgen & Aprison, 1976).

### **Effet potentiel du sélénium**

Des observations suggèrent que le sélénium absorbé principalement par l'alimentation pourrait protéger le développement neurologique prénatal et postnatal de l'enfant contre les effets néfastes du mercure méthylé. Cet effet serait plus important lorsque le sélénium est coadministré avec le MeHg (Satoh & Suzuki, 1979). Selon Glynn et al. (1993), une supplémentation en sélénium chez des souris exposées au MeHg pourrait avoir un effet positif sur la santé des animaux en diminuant le niveau de mercure dans le corps en entier. Satoh, Yasudah et Shimai (1985) observent des concentrations de mercure méthylé significativement plus faibles dans tous les organes de souris âgées de 3 jours ayant reçu une administration combinée de sélénium (30  $\mu\text{mol/kg}$ ) et de mercure (30  $\mu\text{mol/kg}$ ) que dans les organes des souris n'ayant été exposées qu'au MeHg. De plus, le réflexe de redressement et l'activité locomotrice de ces souris montrent un meilleur développement au jour 1 postnatal. Ces données suggèrent un effet protecteur possible du sélénium contre la neurotoxicité du MeHg chez les fœtus et les nouveau-nés (Satoh et al., 1985). Dans une étude récente, Watanabe, Yun, Kasanuma, et Satoh (1999) concluent, à la suite d'une exposition prénatale au mercure méthylé de 0, 5 ou 9 mg/kg au total et d'une diète en sélénium de 0,02, 0,05 et 0,4 mg/kg aux jours 12 à 14 de la gestation, que le groupe le plus affecté en ce qui a trait au développement moteur et autonome (réflexe), à la préférence thermique et à l'activité dans un Open Field était celui ayant reçu le plus faible apport en sélénium et la plus forte dose de mercure méthylé. Ces résultats appuient ceux de Nishikido, Furuyashiki, Naganuma, Suzuki et Imura (1987) qui ont noté une augmentation de la toxicité du mercure méthylé chez les souris dont les mères avaient été soumises à une diète déficiente en Se (<20 ngSe/g) comparativement à celles qui avaient été traitées avec une diète contrôle (400 ngSe/g).

Vather et al. (1995) proposent l'hypothèse qu'un complexe Se-Hg inorganique se formerait dans le cerveau et que le MeHg pourrait induire une déficience locale à l'intérieur de celui-ci en éloignant le sélénium de la synthèse sélénoprotéinique. L'étude de Nishikido, Furuyashiki, Naganuma, Suzuki et Imura (1987) indique que le MeHg inhibe l'activité de la glutathione peroxidase, une sélénoenzyme, sans affecter le niveau de Se dans le foie, laissant supposer que la disponibilité de Se hépatique s'en trouve réduite. Watanabe et coll. (1999) ont plutôt montré une diminution de l'activité de cette sélénoenzyme dans le cerveau, alors que celle associée au foie était intacte, appuyant l'hypothèse que le cerveau pourrait constituer une cible plus sensible au mercure. En somme, il est possible que le MeHg affecte le métabolisme du Se et cause une déficience fonctionnelle et locale en Se. La fonction de la sélénoprotéine serait compromise alors que la concentration de Se dans les tissus ne serait pas affectée. Ces résultats, en plus des observations montrant qu'une déficience en Se provoque des effets nocifs sur le développement neurocomportemental et sur la neurotransmission dans le cerveau (Castano et coll., 1993; Castano, Cano, & Machado, 1993; Watanabe, Kasanuma, & Satoh, 1997; Watanabe & Satoh, 1994; Watanabe & Satoh, 1995), laissent entendre qu'une partie de la toxicité neurocomportementale du MeHg pourrait résulter d'une déplétion du taux de Se cérébral.

Par ailleurs, la marge est étroite entre les niveaux de sélénium bénéfiques pour la santé et ceux qui peuvent être toxiques (Combs Jr. & Combs, 1986) et plusieurs manifestations biologiques sont communes à la carence et à l'excès (Marier & Jaworski, 1983). De plus, une toxicité chronique et aiguë peut survenir chez des animaux ayant des diètes de niveaux relativement faibles en sélénium (Diplock, 1976; National Research Council, Committee on Dietary Allowances, 1980).

### **Objectif de la recherche**

Considérant l'ensemble de ces résultats, nous postulons qu'une déficience in utero en Se combinée à une exposition au MeHg affecte les fonctions neurocomportementales des rejets d'une façon additive. Afin de tester cette hypothèse, nous proposons d'examiner les effets d'une exposition périnatale au MeHg sur les aspects comportementaux, cognitifs, sensoriels et moteurs en utilisant des groupes de souris dont les mères ont reçu une diète déficitaire, moyenne ou élevée



en sélénium. Les aspects spécifiques étudiés incluent la coordination motrice (Rotarod), la discrimination visuelle (Labyrinthe en Y), le comportement exploratoire et la néophobie alimentaire (Open Field), la mémoire de travail (Labyrinthe en T standard et Labyrinthe radial) ainsi que la mémoire de référence (Labyrinthe radial). Ainsi, les objectifs de la présente recherche sont d'évaluer, à l'aide d'un modèle animal, les effets d'une exposition prénatale au MeHg sur le développement neurocomportemental postnatal de l'organisme et de vérifier si le Se joue un rôle protecteur contre les effets néfastes du MeHg.

## Méthode

### Sujets

Cette expérience utilise six groupes de 10 souris femelles de souche non consanguine CD1, nées de portées différentes. La moitié de ces souris (groupes MeSe-, MeSe et MeSe+) sont nées de mères exposées par gavage à 8 mg/kg de MeHg aux jours 7, 8 et 9 de la gestation, ce qui équivaut à un gavage total de 24 mg/kg. Parallèlement à cette exposition prénatale au MeHg, les mères ont reçu une diète avec une teneur en sélénium déficitaire (0,035 ppm), moyenne (0,2 ppm) ou élevée (1,6 ppm) sept semaines avant l'accouplement (jusqu'au jour 21 postnatal). L'autre moitié des souris (groupes Se-, Se et Se+) proviennent de mères non exposées au MeHg mais soumises aux mêmes niveaux de sélénium que les groupes exposés prénatalement au MeHg. Les souris sont logées dans des cages individuelles et soumises à une photopériode inversée 12h – 12h (période diurne entre 12:00 et 0:00) et à une température ambiante contrôlée (22°C). Elles ont libre accès à l'eau mais la ration quotidienne de nourriture est contrôlée de façon que le poids de chacune des souris corresponde approximativement à 85% de son poids normal.

### Matériel

Rotarod. Les habiletés motrices sont mesurées dans le Rotarod (voir Annexe, Figure 1). Cet appareil est une boîte rectangulaire vide, sans couvercle, orientée verticalement. Sur le dessus et au centre de cette boîte, un cylindre rotatif fixé aux parois latérales de l'appareil est activé par un

moteur électrique à vitesse variable. Sous le cylindre se trouve un précipice dont le plancher est tapissé de ouate afin d'amortir la chute éventuelle des souris.

*Labyrinthe en Y.* Cet appareil sert à la tâche de discrimination visuelle (voir Annexe, Figure 2). Le labyrinthe est fait d'acrylique opaque et est entouré de murs de 30 cm de hauteur. Il se compose d'un compartiment de départ fermé par une porte à guillotine, d'une zone centrale de choix en forme de trapèze isocèle (10 x 15 x 20 x 15 cm) suivie de deux couloirs parallèles séparés de la zone centrale de choix par des portes à guillotine. Chaque portion parallèle du labyrinthe comporte un plancher différent, soit noir tacheté de blanc ou blanc rayé de noir. Des mangeoires sont placées à l'extrémité des deux couloirs d'arrivée et servent de réceptacles pour les renforçateurs alimentaires.

*Open Field.* L'activité ambulatoire dans un nouvel environnement et la néophobie alimentaire sont mesurées dans l'Open Field (voir Annexe, Figure 3). Cet appareil est un champ ouvert entouré de murs d'acrylique opaque (hauteur de 30 cm) et dont le plancher est divisé en 25 carrés égaux.

*Labyrinthe en T.* L'apprentissage spatial et la mémoire de travail spatiale sont mesurés dans un Labyrinthe en T standard (voir Annexe, Figure 4). L'appareil est une structure d'acrylique opaque en forme de « T » entourée de murs de 30 cm de hauteur. Il est divisé en un compartiment de départ fermé par une porte à guillotine, un couloir central et deux compartiments d'arrivée orientés perpendiculairement par rapport au couloir central et séparés de ce dernier par des portes à guillotine. Des mangeoires opaques sont placées à l'extrémité des deux compartiments d'arrivée pour contenir les renforçateurs alimentaires.

*Labyrinthe radial.* La mémoire de travail et la mémoire de référence spatiales sont mesurées dans un labyrinthe radial (voir Annexe, Figure 5). Cet appareil est placé 60 cm au-dessus du sol et possède huit couloirs de 60 cm de longueur et de 9 cm de largeur disposés en rayon autour d'une plate-forme centrale octogonale (diamètre : 40 cm) entourée d'un mur de bois. Les huit couloirs sont séparés de la plate-forme centrale par des portes à guillotine. Ces portes sont actionnées à distance grâce à un système de filage permettant à l'expérimentateur de contrôler l'accès aux

différents couloirs tout en étant caché derrière un écran. Une caméra reliée à un moniteur en circuit fermé permet à l'expérimentateur d'observer et de noter les comportements des souris. L'environnement autour du labyrinthe comprend des stimuli multiples, le même stimulus pouvant être vu de plusieurs couloirs et aucun stimulus n'étant associé à un couloir spécifique.

## **Procédure**

Une procédure à l'aveugle est utilisée de façon que les expérimentateurs ignorent à quel groupe expérimental appartiennent les souris pendant la collecte des données. Les souris commencent à être testées à l'âge de six semaines. Lors des cinq premiers jours, les souris sont soumises simultanément au test du Rotarod et à la discrimination visuelle dans le Labyrinthe en Y. Lorsque le test du Rotarod est complété, seule la tâche de discrimination visuelle est administrée jusqu'au jour 9. Au jour 10, l'exploration et la néophobie alimentaire sont mesurées dans l'Open Field. À partir du jour 11, les souris sont familiarisées avec le labyrinthe en T. Elles sont entraînées et testées dans la tâche d'alternance spatiale sur une période de 14 jours. Au terme de ces 15 jours, elles sont soumises à la tâche du labyrinthe radial pendant 15 jours. La durée totale des tests est donc de 40 jours.

*Apprentissage moteur dans le Rotarod.* L'épreuve du Rotarod s'échelonne sur cinq jours (jours 1 à 5), la première journée servant de mesure de base et les quatre jours suivants constituant la phase de test. Au jour 1, le cylindre est immobile (0 rpm) lors du premier essai puis actionné à une vitesse de 3 rpm lors de l'essai subséquent. Ces deux essais préliminaires permettent de familiariser les souris avec l'appareil et de vérifier si elles possèdent un minimum d'équilibre et de coordination motrice, prérequis nécessaires à la phase de test. Durant cette phase préliminaire et le test qui suit, une chute survenant dans les 10 premières secondes d'un essai est considérée comme un faux départ et l'essai est repris après une pause de 30 secondes. La session du jour 1 se termine lorsque la souris réussit à se maintenir sur le cylindre pendant 120 secondes consécutives dans les conditions 0 et 3 rpm. Durant la phase de test (jours 2 à 5), le cylindre tourne à une vitesse de 20 rpm. Chaque session quotidienne comprend cinq essais séparés par un intervalle d'environ 4 minutes; à chaque essai, la souris doit se maintenir sur le cylindre pendant 120

secondes. L'expérimentateur enregistre la latence de chute. Lorsqu'un essai est réussi, la latence maximale de 120 sec est attribuée à cet essai.

*Discrimination visuelle dans le Labyrinthe en Y.* La tâche de Labyrinthe en Y servant à mesurer la discrimination visuelle s'échelonne sur neuf jours (jours 1 à 9). La première journée consiste en une séance de familiarisation. Des renforçateurs sont dispersés sur le plancher de l'appareil de manière que l'animal explore tous les compartiments et se familiarise avec le labyrinthe, les renforçateurs et le mouvement des portes à guillotine. Pendant la période de test, la nourriture est toujours placée dans le réceptacle situé au bout du compartiment correspondant au plancher noir tacheté de blanc (S+) pour la moitié des souris de chaque groupe et du compartiment correspondant au plancher blanc rayé noir pour l'autre moitié des souris. La position des planchers varie d'un essai à l'autre selon une séquence aléatoire. Au début de l'essai, la souris est placée dans le compartiment de départ et l'expérimentateur ouvre la porte à guillotine pour donner accès à la zone centrale. Une fois la souris dans la zone centrale, l'expérimentateur ouvre les portes donnant accès aux deux couloirs. Une réussite est notée si la souris choisit le couloir recouvert du plancher associé au renforçateur (S+). Les souris sont testées pendant huit sessions consécutives à raison de 10 essais par jour. Une procédure de correction est utilisée lors des deux premières sessions : si la souris choisit le couloir non renforcé, un échec est noté et la souris est ramenée dans le compartiment de départ et l'essai est immédiatement repris, seule la porte du couloir renforcé étant ouverte (choix forcé).

*Exploration et néophobie alimentaire dans l'Open Field.* Le test de l'Open Field est administré à une seule occasion (jour 10). Les souris sont placées dans l'appareil pendant une période totale de 10 minutes. Dans le carré central de l'appareil se trouvent deux aliments placés côte à côte: un morceau de moulée sèche (nourriture familière) et un morceau de fromage (nourriture nouvelle). Les deux aliments sont pesés avant et après le test afin de déterminer la quantité exacte de nourriture ingérée par l'animal. Le comportement d'approche des deux aliments et la quantité totale ingérée servent d'indices pour évaluer la néophobie alimentaire. Les autres mesures recueillies dans cette tâche servent à évaluer la composante exploratoire, soit le nombre de carrés centraux, périphériques et totaux traversés (exploration horizontale) et le nombre de redressements sur les pattes arrière (exploration verticale). Cette procédure d'évaluation de la

néophobie et de l'exploration à l'intérieur de l'Open Field est inspirée par Burns, Annett, Kelley, Everitt et Robbins (1996).

*Alternance spatiale dans le Labyrinthe en T.* Le Labyrinthe en T constitue un test de mémoire de travail. La tâche de la souris consiste à se rendre dans le compartiment d'arrivée opposé à celui qu'elle vient tout juste de visiter lors de la course précédente (comportement d'alternance). Au jour 11, les souris sont familiarisées avec l'appareil et, du jour 12 au jour 17, elles sont soumises à l'apprentissage de la tâche. Chaque session quotidienne comprend 10 essais et chaque essai se compose d'une phase d'échantillonnage (choix forcé) et d'un test (choix libre). Lors de la phase d'échantillonnage, un seul des deux compartiments d'arrivée est ouvert et la souris doit y entrer pour obtenir le renforçateur. Lors de la phase de test, les deux compartiments d'arrivée sont ouverts et, pour réussir, l'animal doit choisir le compartiment opposé à celui qu'il a visité durant la phase d'échantillonnage (comportement d'alternance). La séquence gauche/droite des couloirs échantillonnés est déterminée au hasard. Durant cet apprentissage de la tâche, la phase de test suit immédiatement la phase d'échantillonnage. Toutefois, lors des huit jours suivants, un délai est ajouté entre les deux phases d'un essai et le nombre d'essais quotidiens est réduit de 10 à cinq. Du jour 18 au jour 21, le délai entre l'échantillonnage et le test est de 30 sec, tandis que du jour 22 au jour 25, il est de 120 sec. Un total de 40 essais est donc administré pour chacun des deux délais.

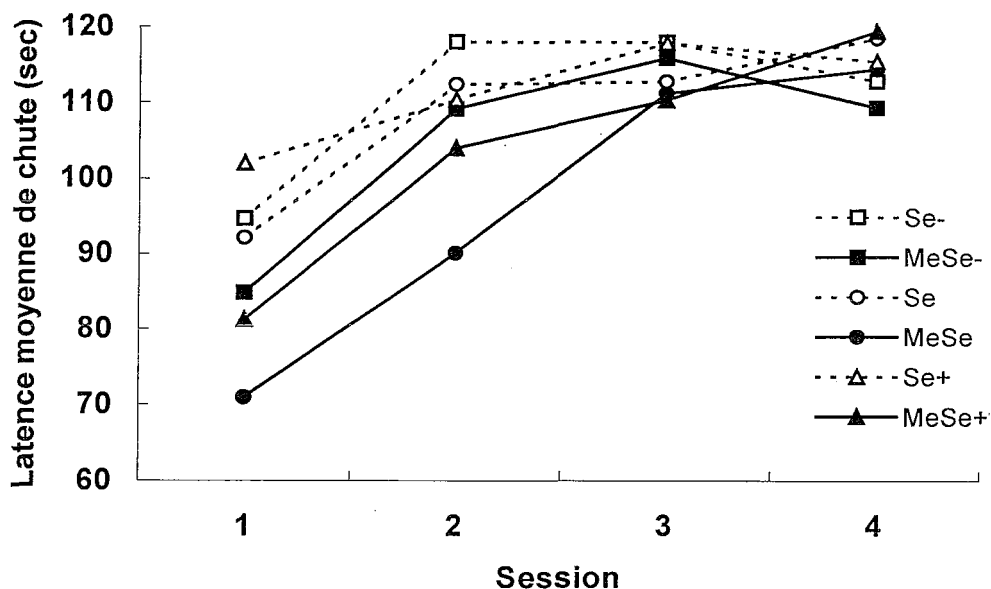
*Mémoire de travail et mémoire de référence spatiales dans le Labyrinthe radial.* Les souris sont soumises à la version mémoire de travail – mémoire de référence du labyrinthe radial. Dans cette version, quatre couloirs, toujours les mêmes d'un essai à l'autre, contiennent un renforçateur alimentaire, et quatre couloirs n'en contiennent jamais. L'animal doit apprendre à visiter les couloirs appâtés mais sans y retourner à l'intérieur d'un même essai (mémoire de travail). Il doit aussi apprendre à éviter les couloirs qui ne sont jamais appâtés d'un essai à l'autre (mémoire de référence). Durant les cinq premiers jours (jours 26 à 30), les souris sont familiarisées avec l'appareil et, durant les dix jours suivants (jours 31 à 40), elles apprennent la tâche proprement dite. Lors des deux premiers jours de familiarisation, quatre renforçateurs alimentaires sont dispersés le long des couloirs 1, 2, 4 et 7 et la souris peut explorer le labyrinthe pendant une période variant entre 5 et 10 minutes. Lors des trois jours suivants, le nombre de renforçateurs par

couloir est diminué progressivement d'une séance de familiarisation à l'autre jusqu'à ce qu'il y ait un seul renforçateur situé dans la mangeoire de chacun des quatre couloirs. En plus de familiariser les souris avec l'appareil, cette étape préliminaire sert à établir en mémoire de référence lesquels des huit couloirs sont toujours appâtés. Lors de l'étape du test, les souris doivent faire appel aux connaissances acquises durant la familiarisation et consommer la nourriture cachée au bout des couloirs 1, 2, 4 et 7. Une erreur de mémoire de travail est enregistrée si la souris retourne dans un couloir qu'elle a déjà visité au cours de l'essai et une erreur de mémoire de référence est enregistrée si elle visite un couloir qui n'est jamais appâté. La séance quotidienne prend fin lorsque l'un ou l'autre des critères suivants est atteint : les couloirs 1, 2, 4 et 7 ont tous été visités, 16 visites ont été effectuées ou 10 minutes se sont écoulées.

## **Résultats**

### **Apprentissage moteur dans le Rotarod**

L'absence de chute lors des essais à 0 et 3 rpm indique que tous les groupes possèdent un minimum d'équilibre et de coordination motrice. La Figure 1, qui présente les résultats obtenus lors du test à 20 rpm, montre que la latence moyenne de chute dans le Rotarod augmente au fil des quatre sessions chez tous les groupes. Cependant, lors des deux premières sessions, les groupes exposés au MeHg présentent une performance inférieure à celle des groupes non exposés.



**Figure 1. Latences moyennes de chute (sec) dans le Rotarod au cours des quatre sessions quotidiennes de cinq essais.**

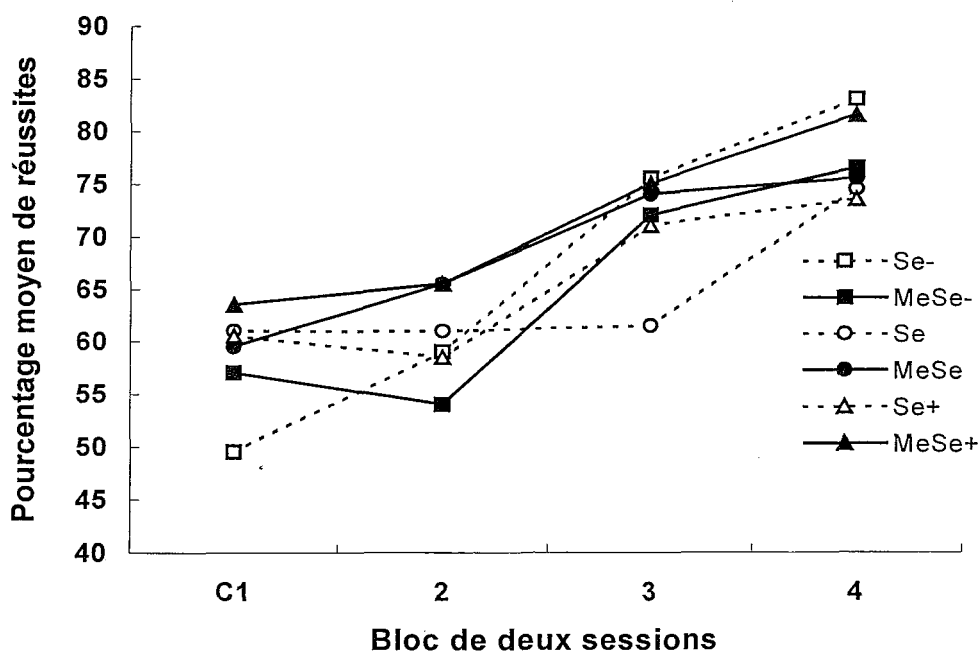
Une ANOVA Exposition x Diète x Session avec mesures répétées sur le dernier facteur indique que les facteurs Exposition,  $F(1, 54) = 6.54$   $p < .05$ , et Session,  $F(3, 162) = 33.49$   $p < .0001$ , ainsi que l'interaction Exposition x Session,  $F(3, 162) = 2.86$   $p < .05$ , sont significatifs. L'analyse des effets simples de cette interaction (correction de Satterthwaite pour le carré moyen d'erreur et son degré de liberté) révèle que les souris exposées au MeHg présentent une latence de chute plus courte que les souris non exposées à la Session 1,  $F(1, 181) = 11.36$   $p < .001$ , et à la Session 2,  $F(1, 181) = 5.92$   $p < .05$ , mais il n'y a aucune différence significative entre les groupes exposés et non exposés aux Sessions 3 et 4,  $F(1, 181) < 1$ . Par contre, la diète en sélénium n'a pas d'effet sur la performance dans le Rotarod puisque le facteur Diète,  $F(2, 54) < 1$ , les interactions doubles Exposition x Diète,  $F(2, 54) < 1$ , et Diète x Session,  $F(6, 162) = 1.20$ , et l'interaction triple,  $F(6, 162) < 1$ , ne sont pas significatifs.

La performance dans le Rotarod indique que les souris exposées au MeHg ont initialement plus de difficulté que les souris non exposées à acquérir la coordination motrice requise pour se maintenir en équilibre sur le cylindre rotatif. Néanmoins, ce retard

d'apprentissage est surmonté dès la troisième session. Quant à la teneur de la diète en sélénium, elle n'exerce aucune influence positive ou négative sur l'apprentissage.

### Discrimination visuelle dans le Labyrinthe en Y

La Figure 2 présente les pourcentages moyens de réussites dans l'apprentissage de la discrimination visuelle lors du premier bloc de deux sessions avec procédure de correction et lors des trois blocs suivants de deux sessions. La performance chez tous les groupes s'améliore au cours des quatre blocs d'essais et, au dernier bloc, les pourcentages de réussites se situent entre 73 et 83%.



**Figure 2. Pourcentages moyens de réussites dans l'apprentissage de la discrimination visuelle lors du premier bloc de deux sessions avec procédure de correction (C1) et des trois blocs subséquents.**

Une ANOVA Exposition x Diète x Bloc avec mesures répétées sur le dernier facteur révèle que le facteur Bloc,  $F(3, 162) = 38.45$   $p < .0001$ , est significatif. Un test de comparaisons multiples a posteriori de Tukey indique des différences significatives entre les blocs 1 et 3 ( $p <$



.01), 1 et 4 ( $p < .01$ ), 2 et 3 ( $p < .01$ ), 2 et 4 ( $p < .01$ ), ainsi qu'entre les blocs 3 et 4 ( $p < .05$ ). Les facteurs Exposition,  $F(1, 54) < 1$ , et Diète,  $F(2, 54) < 1$ , ne sont pas significatifs. Seule l'interaction Diète x Bloc,  $F(6, 162) = 2.23$   $p < .05$  est significative (Exposition x Diète :  $F(2, 54) < 1$ , Exposition x Bloc :  $F(3, 162) < 1$ , Exposition x Diète x Bloc :  $F(6, 162) < 1$ ). L'analyse des effets simples de l'interaction Diète x Bloc (correction de Satterthwaite) ne révèle aucune différence significative entre les trois niveaux de sélénium au Bloc 1,  $F(2, 120) = 1.65$ , ou aux trois blocs de sessions suivants  $F(2, 120) < 1$ .

L'exposition au MeHg et la teneur en sélénium de la diète n'affectent donc pas l'apprentissage de la discrimination visuelle.

### Exploration et néophobie alimentaire dans l'Open Field

Comme le montre la Figure 3, les groupes exposés au MeHg semblent traverser un plus grand nombre de carrés au total pendant cette session unique de 10 minutes dans l'Open Field que les souris non exposées. Une ANOVA Exposition x Diète confirme que le facteur Exposition,  $F(1, 54) = 5.52$   $p < .05$ , est significatif mais que les facteurs Diète,  $F(2, 54) < 1$ , et l'interaction Exposition x Diète,  $F(2, 54) < 1$ , ne le sont pas.

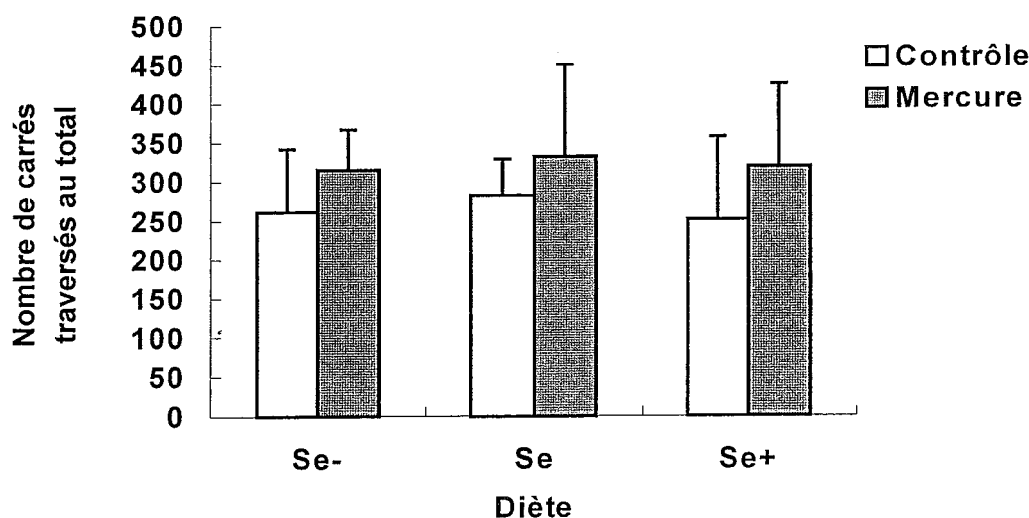
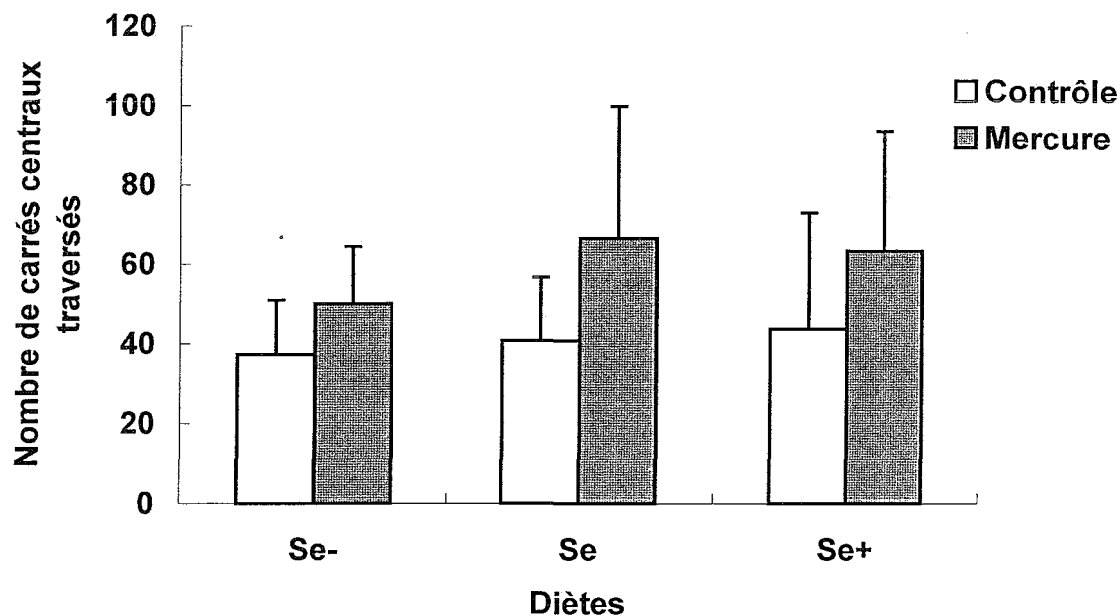


Figure 3. Nombres de carrés traversés au total dans l'Open Field

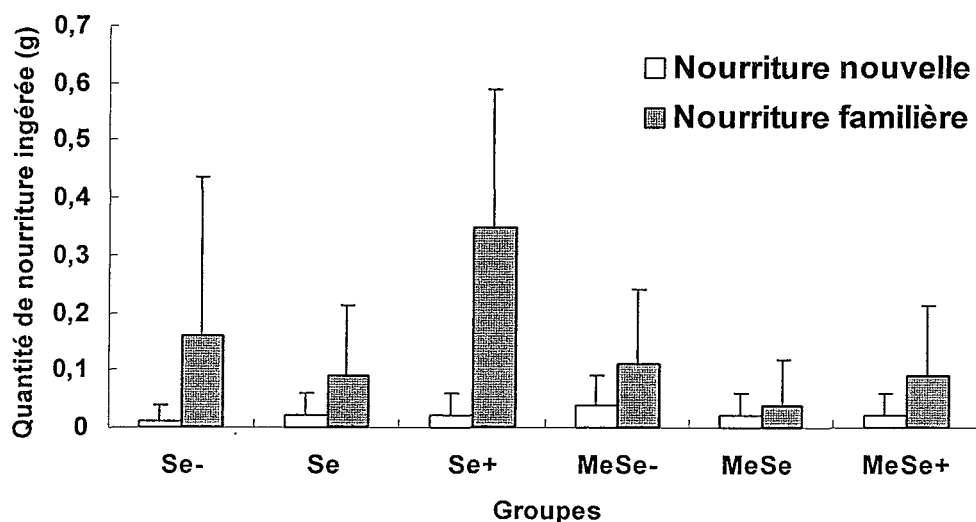


La Figure 4 suggère que les groupes exposés au MeHg traversent aussi un plus grand nombre de carrés centraux que le groupe contrôle. Une ANOVA Exposition x Diète confirme que le facteur Exposition,  $F(1, 54) = 8.63$   $p < .05$ , est significatif alors que les facteurs Diète,  $F(2, 54) = 1.03$ , et l'interaction Exposition x Diète,  $F(2, 54) < 1$ , ne le sont pas.



**Figure 4. Nombres de carrés centraux traversés dans l'Open Field**

La Figure 5 indique que les souris consomment davantage la nourriture familière que la nourriture nouvelle, cette dernière ayant été très peu consommée. Une ANOVA Exposition x Diète x Nourriture avec mesures répétées sur le dernier facteur montre que les facteurs Exposition,  $F(1, 54) = 4.93$   $p < .05$ , Diète,  $F(2, 54) = 3.26$   $p < .05$  et Nourriture,  $F(1, 54) = 23.57$   $p < .001$ , ainsi que les interactions Exposition x Nourriture,  $F(1, 54) = 7.11$   $p < .05$ , et Diète x Nourriture,  $F(2, 54) = 3.40$   $p < .05$ , sont significatifs alors que les interactions Exposition x Diète,  $F(2, 54) = 2.32$ , et Exposition x Nourriture x Diète,  $F(2, 54) = 1.81$ , ne sont pas significatives.



**Figure 5. Quantités de nourriture ingérée (g) en fonction de la nouveauté**

L'analyse des effets simples de l'interaction Exposition x Nourriture révèle que les souris exposées au MeHg consomment significativement moins de nourriture connue que les souris non exposées au MeHg,  $F(1, 54) = 6.27$   $p < .05$ , mais qu'il n'y a pas de différence dans la consommation de nourriture nouvelle entre les souris exposées et non exposées au MeHg,  $F(1, 54) < 1$ . Par ailleurs, l'analyse des effets simples de l'interaction Diète x Nourriture indique une différence significative entre les trois niveaux de sélénium dans la consommation de nourriture familière,  $F(2, 54) = 3.5$   $p < .05$ . Un test de comparaisons multiples a posteriori de Tukey révèle une différence significative ( $p < .05$ ) entre les groupes Se et Se+ mais aucune différence entre les groupes Se- et Se ainsi qu'entre les groupes Se- et Se+. L'analyse des effets simples de l'interaction Diète x Nourriture n'indique aucune différence significative entre les trois niveaux de sélénium dans la consommation de nourriture nouvelle,  $F(2, 54) < 1$ .

Les souris exposées au MeHg traversent donc significativement plus de carrés au total ainsi qu'au centre de l'Open Field et consomment significativement moins de nourriture connue que les souris des groupes contrôles.

## Alternance spatiale dans le Labyrinthe en T

La Figure 6 présente les pourcentages de réussites lors de l'apprentissage sans délai de l'alternance spatiale dans le labyrinthe en T. La performance chez tous les groupes s'améliore de façon linéaire au fil des blocs d'essais. Une ANOVA Exposition x Diète x Bloc avec mesures répétées sur le dernier facteur montre que les facteurs Exposition,  $F(1, 54) = 2.54$ , et Diète,  $F(2, 54) < 1$ , et leur interaction,  $F(2, 54) = 2.75$ , de même que les interactions Exposition x Bloc,  $F(2, 108) < 1$ , Diète x Bloc,  $F(4, 108) < 1$ , et Exposition x Diète x Bloc,  $F(4, 108) < 1$ , ne sont pas significatifs. Seul le facteur Bloc,  $F(2, 108) = 19.24$   $p < .0001$ , est significatif. Un test de comparaisons multiples a posteriori de Tukey ( $p < .01$ ) révèle des différences significatives entre tous les blocs d'essais, soit entre 1 et 2, entre 1 et 3, ainsi qu'entre 2 et 3.

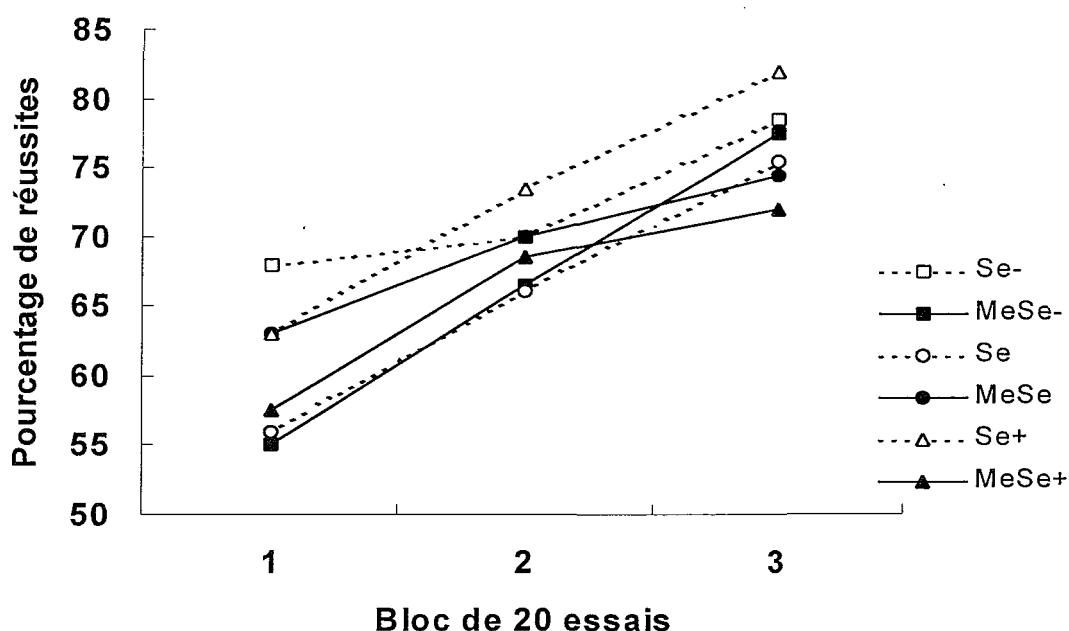


Figure 6. Pourcentages de réussites en fonction des blocs de 20 essais lors de l'entraînement sans délai au labyrinthe en T.

Comme le montre la Figure 7 qui compare les deux dernières sessions d'apprentissage à 0 seconde et les résultats au test avec délai, les pourcentages de réussites diminuent avec l'allongement du délai chez tous les groupes. Une ANOVA Exposition x Diète x Délai avec

mesures répétées sur le dernier facteur confirme que le facteur Délai est significatif,  $F(2, 108) = 20.01$   $p < .0001$ . Cependant, les facteurs Exposition,  $F(1, 54) = 1.66$ , et Diète,  $F(2, 54) < 1$ , les interactions doubles Exposition x Diète,  $F(2, 54) < 1$ , Exposition x Délai,  $F(2, 108) < 1$ , et Diète x Délai,  $F(4, 108) = 1.09$ , et l'interaction triple,  $F(4, 108) < 1$ , ne sont pas significatifs. Afin de préciser les différences entre les délais, un test de comparaisons multiples a posteriori de Tukey a été effectué. Des différences significatives ( $p < .01$ ) sont observées entre les délais de 0 et 120 secondes et entre ceux de 30 et 120 secondes alors qu'il n'y a pas de différence significative entre les délais de 0 et 30 secondes.

En somme, ni l'exposition au MeHg, ni la teneur en sélénium de la diète n'ont d'effet sur l'apprentissage de l'alternance spatiale dans le labyrinthe en T ou sur le test avec des délais de 30 et 120 secondes.

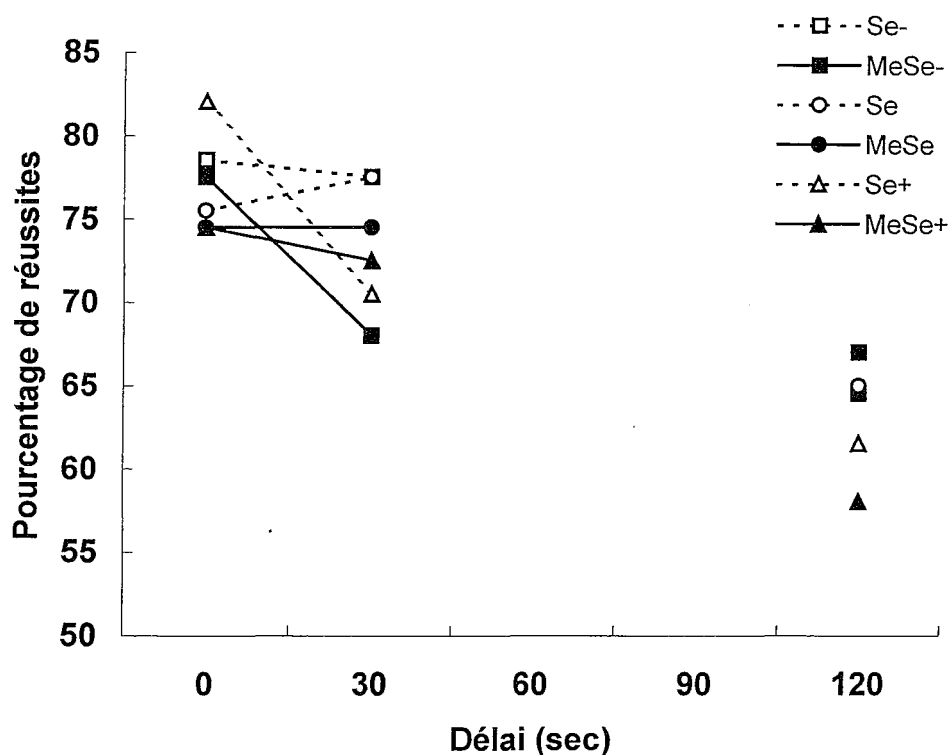


Figure 7. Pourcentages de réussites en fonction des délais lors du test dans le labyrinthe en T. Les données à 0 sec obtenues lors des deux dernières sessions d'apprentissage sont également représentées dans ce graphique.

## Mémoire de travail et mémoire de référence spatiales dans le Labyrinthe radial

La Figure 8 montre une diminution des erreurs de mémoire de travail en fonction des blocs de sessions chez tous les groupes, bien qu'elle soit beaucoup moins prononcée chez les groupes MeSe- et MeSe que chez les autres groupes. Une ANOVA Exposition x Diète x Bloc avec mesures répétées sur le dernier facteur indique que les facteurs Diète,  $F(2, 54) = 3.31$   $p < .05$ , et Bloc,  $F(4, 216) = 7.12$   $p < .001$ , ainsi que l'interaction Exposition x Diète,  $F(2, 54) = p < .05$  sont significatifs. Les facteurs Exposition,  $F(1, 54) = 3.64$ , les interactions Exposition x Bloc ( $4, 216) = 1.89$ , Diète x Bloc,  $F(8, 216) < 1$ , et l'interaction triple,  $F(8, 216) < 1$ , ne sont pas significatifs.

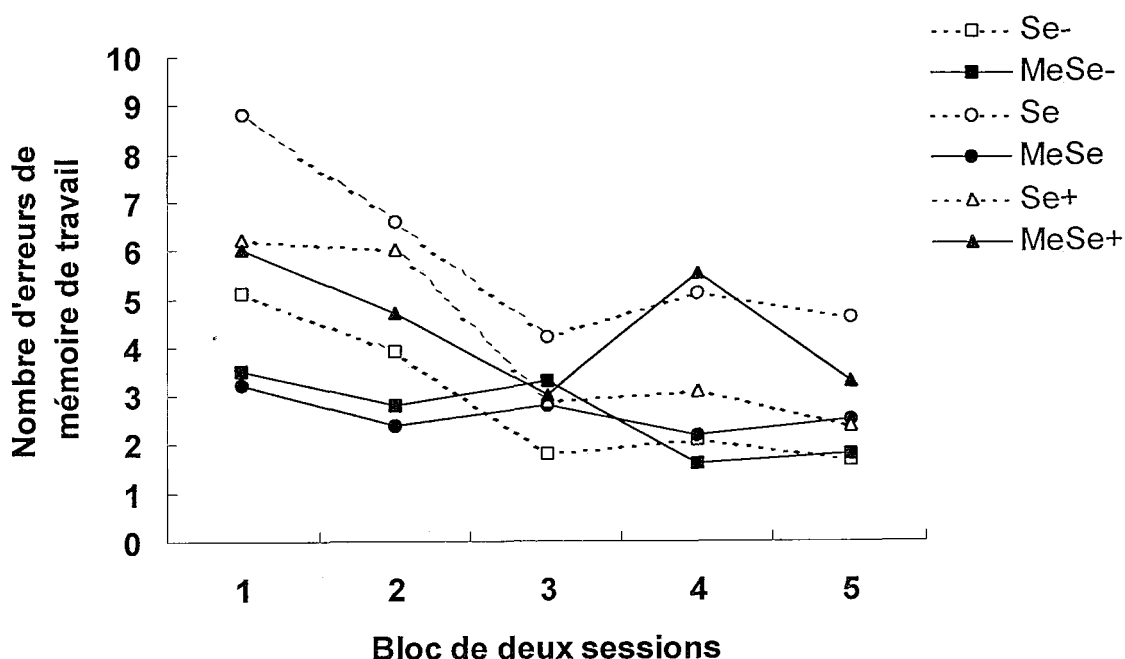
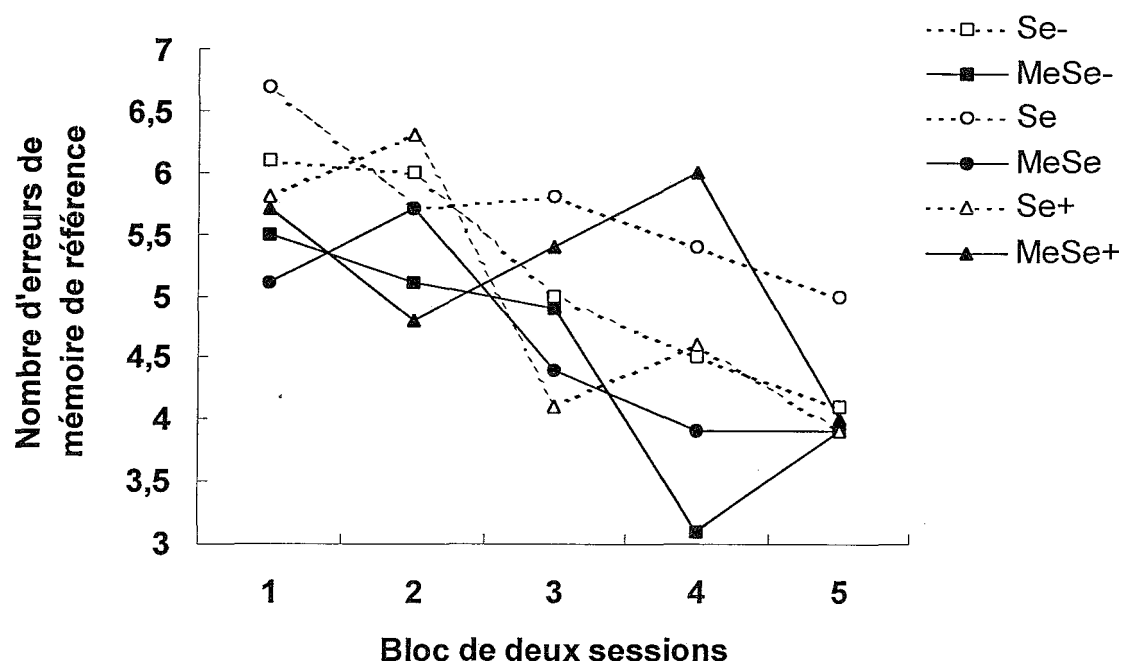


Figure 8. Nombres moyens d'erreurs de mémoire de travail dans le labyrinthe radial au cours des cinq blocs de deux sessions.

Un test de comparaisons multiples a posteriori de Tukey montre des différences significatives entre les blocs 1 et 3 ( $p < .01$ ), 1 et 4 ( $p < .01$ ), 1 et 5 ( $p < .01$ ) ainsi qu'entre les

blocs 2 et 5 ( $p < .05$ ). L'analyse des effets simples de l'interaction Exposition x Diète révèle que le facteur MeHg est significatif chez les souris ayant reçu une diète normale en sélénium,  $F(1,54) = 11.35$   $p < .001$ , mais pas chez les souris ayant reçu une diète à teneur déficitaire ou élevée,  $F(1, 54) < 1$ . Cette analyse montre aussi que le facteur sélénium est significatif chez les souris non exposées au MeHg,  $F(2, 54) = 4.72$   $p < .01$ , mais non significatif chez les souris exposées,  $F(2, 54) = 2.57$ .

La Figure 9 illustre une diminution des erreurs de mémoire de référence en fonction des blocs de sessions chez tous les groupes. Une ANOVA Exposition x Diète x Bloc avec mesures répétées sur le dernier facteur révèle que les facteurs Exposition,  $F(1, 54) = 4.09$   $p < .05$ , et Bloc,  $F(4, 216) = 11.38$   $p < .001$ , sont significatifs. Par conséquent, les souris exposées au MeHg commettent moins d'erreurs de mémoire de référence que les souris non exposées et le nombre d'erreurs de mémoire de référence diminue chez tous les groupes. Un test de comparaisons multiples a posteriori de Tukey montre des différences significatives entre les blocs 1 et 3 ( $p < .05$ ), 1 et 4 ( $p < .01$ ), 1 et 5 ( $p < .01$ ), 2 et 4 ( $p < .01$ ), ainsi qu'entre 2 et 5 ( $p < .01$ ). Le facteur Diète,  $F(2, 54) < 1$ , les interactions Exposition x Diète,  $F(4, 216) = 2.43$ , Exposition x Bloc,  $F(4, 216) < 1$ , Diète x Bloc,  $F(8, 216) < 1$ , et l'interaction triple,  $F(8, 216) = 1.72$  ne sont pas significatifs.



**Figure 9.** Nombres moyens d'erreurs de mémoire de référence dans le labyrinthe radial au cours des cinq blocs de deux sessions.

Bref, une diminution des erreurs de mémoire de travail et de mémoire de référence spatiales en fonction des blocs de sessions est observée chez tous les groupes. De plus, les souris exposées au MeHg commettent moins d'erreurs de mémoire de référence que les souris des groupes contrôles.

## Discussion

### Apprentissage de la coordination motrice

Les résultats obtenus dans la présente expérience montrent que l'exposition prénatale au mercure méthylé retarde temporairement l'apprentissage de la coordination motrice nécessaire à la réussite de la tâche du Rotarod. La latence de chute est en effet significativement plus courte lors des deux premières sessions de test chez les souris ayant été exposées au mercure méthylé que chez les souris contrôles alors qu'il n'y a pas de différence significative entre ces deux



groupes lors des sessions 3 et 4. Par ailleurs, ce retard temporaire d'apprentissage moteur chez les souris exposées au MeHg ne permet vraisemblablement pas d'expliquer les résultats obtenus dans les autres tâches administrées. Lors de la session unique dans l'Open Field, l'exploration plus marquée chez les souris exposées au MeHg est incompatible avec l'hypothèse d'un déficit généralisé du comportement ambulateur chez ces souris. Ainsi, il semble que la coordination motrice nécessaire au maintien sur un cylindre en rotation soit plus exigeante et sensible aux effets du MeHg que celle nécessaire à la marche ou à la course sur un plancher immobile. De plus, le Rotarod et l'Open Field sont deux tâches qui mettent en jeu des fonctions motrices différentes : l'apprentissage d'une coordination motrice dans le cas du Rotarod et l'exécution d'un comportement ne nécessitant pas d'apprentissage (marche sur un plancher) dans le cas de l'Open Field. Puisque les tâches de discrimination visuelle, de Labyrinthe en T et de Labyrinthe radial se déroulent aussi sur un plancher immobile, cet effet de retard temporaire dans l'apprentissage de la coordination motrice observé dans le Rotarod ne risque pas de contaminer les résultats obtenus à ces tâches. Selon Rice (1996), l'altération des fonctions motrices constituerait l'effet le plus saillant d'une exposition au mercure méthylé chez les rongeurs. Par ailleurs, nos résultats indiquent que le sélénium ne semble pas avoir d'effet sur l'apprentissage de la coordination motrice.

### **Effets au plan visuel**

Lors de la tâche de discrimination visuelle dans le Labyrinthe en Y, la performance des souris s'améliore au fil des sessions mais n'est pas influencée significativement par l'exposition au mercure méthylé et par sa combinaison avec le sélénium. Alors que peu de recherches ont été effectuées jusqu'à présent sur les effets d'une exposition au mercure méthylé sur le fonctionnement des systèmes sensoriels chez les rongeurs, il a été démontré qu'une telle exposition provoque des changements des fonctions visuelles, auditives et somatosensorielles chez les primates (Rice, 1996). Dans le cadre de la présente expérience, aucun déficit au plan visuel n'a été observé chez les souris exposées prénatalement au mercure méthylé.

## Exploration et néophobie

Sur le plan comportemental, deux variables interreliées sont évaluées dans le cadre de la tâche de l'Open Field : l'exploration et la néophobie alimentaire. L'exploration ambulatoire est mesurée par le nombre de carrés traversés (centraux, périphériques ou au total), alors que la néophobie alimentaire est mesurée par la quantité de nourriture nouvelle ingérée. Afin d'expliquer la consommation de nourriture significativement plus faible dans l'Open Field chez les souris exposées au mercure méthylé, trois hypothèses peuvent être avancées. Premièrement, les souris exposées au mercure méthylé pourraient présenter une attention plus faible et ainsi négliger la présence de nourriture au centre de l'Open Field. De tels déficits d'attention chez les souris exposées au mercure méthylé ont d'ailleurs été observés par plusieurs chercheurs (Elsner, 1986; Elsner, Suter, Ulbrich, & Shreiner, 1986; Hughes & Annau, 1976). Cependant, cette interprétation des résultats de la présente expérience est peu probable puisqu'il n'y a pas de déficit évident dans la tâche de discrimination visuelle ni dans la tâche d'alternance spatiale dans le Labyrinthe en T. Deuxièmement, les souris exposées au mercure méthylé pourraient craindre de consommer de la nourriture dans un nouvel environnement. Cependant, cette crainte ne pourrait être due au fait d'explorer le centre de l'Open Field (endroit où se trouve la nourriture) puisqu'elles y circulent significativement plus souvent que les souris contrôles. Troisièmement, les souris exposées au mercure méthylé pourraient consommer moins de nourriture en raison de leur niveau d'activité beaucoup plus élevé que les souris des groupes contrôles. En effet, elles traversent significativement plus de carrés au total et de carrés centraux que les souris des conditions Se. Ces données semblent aller dans le sens contraire de ce qui est généralement rapporté dans la littérature. Su et Okita (1976) rapportent une diminution de l'activité exploratoire chez des souris âgées entre 24 et 64 jours à la suite d'une dose unique de 6,8 ou de 10,2 mgHg/kg au jour 10 de la gestation. De même, une diminution de l'activité exploratoire est observée par Inouye, Murao et Kajiwara (1985) chez des souris âgées de 3 à 8 semaines à la suite d'une dose unique de 16,0 mgHg/kg aux jours 13, 14, 15, 16 ou 17 de gestation. Kim, Nakai, Kasanuma et Satoh (2000) notent eux aussi une diminution de l'activité exploratoire chez deux souches de souris sur trois ayant été exposées à trois doses de 3 mgHg/kg aux jours 12 à 14 de gestation. Par ailleurs, Kim, Nakai, Kasanuma, et Satoh (2000) observent une activité locomotrice centrale plus prononcée chez une souche de souris ayant été exposée prénatalement à trois doses de 3 mg/kg de MeHg aux jours 12 à 14 de gestation. Néanmoins, l'activité

locomotrice totale reste tout de même plus faible que chez le groupe contrôle, contrairement aux résultats de la présente étude. Les différences que nous observons entre les groupes exposés et non exposés au MeHg pourraient donc s'expliquer par l'existence d'une étroite relation entre les variables « activité ambulatoire » et « consommation de nourriture ».

Un effet significatif de néophobie alimentaire est noté chez l'ensemble des groupes de souris, c'est-à-dire que celles-ci consomment davantage de nourriture connue (moulée sèche) que de nourriture nouvelle (fromage). Les souris contrôles ont consommé une quantité de nourriture connue significativement plus grande que les souris exposées au mercure alors que la faible consommation de nourriture nouvelle n'est pas différente en fonction du facteur exposition.

Burns, Annett, Kelley, Everitt et Robbins (1996) ont évalué l'effet de lésions excitotoxiques de trois structures (noyau basolatéral de l'amygdale, subiculum ventral et cortex préfrontal ventromédian) afférentes majeures vers le striatum ventral et le nucleus accumbens chez des rats soumis à la tâche de l'Open Field. Alors que des lésions combinées au noyau basolatéral de l'amygdale et au subiculum ventral réduisent la néophobie alimentaire, les dommages limités au noyau amygdalien augmentent cette tendance alors que ceux touchant uniquement le subiculum ventral diminuent l'activité locomotrice. Les auteurs observent également que des lésions du nucleus accumbens augmentent l'activité locomotrice et atténuent la néophobie alimentaire, tout en provoquant une diminution de la consommation de nourriture en général (connue et nouvelle) comparativement à des rats contrôles. Les effets consécutifs aux lésions du nucleus accumbens engendrent donc des résultats similaires à ceux de la présente expérience, soit une augmentation de l'activité locomotrice et une diminution de la consommation de nourriture à l'intérieur de l'Open Field. Ainsi, le nucleus accumbens pourrait être une région particulièrement affectée par une exposition prénatale au MeHg.

### **Alternance spatiale dans le Labyrinthe en T**

Dans le Labyrinthe en T, les souris de tous les groupes présentent un profil de performance similaire dans la tâche sans délai ou avec délais. Chez tous les groupes, l'allongement du délai affecte dans la même proportion la performance des souris. Ainsi, il

semble que la mémoire de travail spatiale et les fonctions frontales ne soient pas diminuées par l'exposition au mercure méthylé ou par la supplémentation en sélénium apportées aux souris de la présente étude. Ces résultats sont différents de ceux de Koji (1996) qui a noté que le comportement d'alternance dans le Labyrinthe en T est compromis par l'administration d'une dose de 6 mg/kg/jour de mercure méthylé pendant 7 jours consécutifs après la naissance. Ces écarts dans les résultats pourraient s'expliquer par les différences au niveau de la dose et de la période de gavage au mercure méthylé. En effet, l'exposition prénatale et l'exposition postnatale ont souvent des effets très différents. Koji (1996) a exposé les souris à un total de 42 mg/kg de MeHg sur une période de 7 jours après la naissance alors que les souris de la présente expérience ont été exposées à un total de 24 mg/kg de MeHg *in utero*.

### **Mémoire de travail et mémoire de référence spatiales dans le Labyrinthe radial**

À la tâche du Labyrinthe radial, tous les groupes démontrent un apprentissage puisque le nombre d'erreurs de mémoire de travail et de mémoire de référence associé à chacun diminuent significativement en fonction des blocs d'essais. En ce qui a trait à la mémoire de travail, un effet significatif du sélénium ainsi qu'une interaction significative entre le MeHg et le sélénium sont observés. Ces résultats diffèrent de ceux observés dans le Labyrinthe en T où la mémoire de travail n'était pas influencée par le sélénium. Cependant, les groupes démontrant le moins d'erreurs de mémoire de travail lors des deux derniers blocs d'essais sont ceux ayant reçu une diète déficiente en sélénium, ce qui va à l'encontre des résultats attendus. La plus grande quantité d'erreurs de mémoire de travail lors des deux derniers blocs d'essais chez les groupes ayant reçu une diète avec une teneur élevée en sélénium pourrait s'expliquer par le fait qu'une telle diète risque de causer des effets néfastes à l'organisme. En effet, tel que mentionné précédemment, une toxicité chronique et aiguë peut survenir chez des animaux ayant des diètes de niveaux relativement faibles en sélénium (Diplock, 1976; National Research Council, Committee on Dietary Allowances, 1980). Ainsi, dans la présente expérience, nous ne pouvons éliminer la possibilité que la diète à teneur élevée en sélénium ait produit des effets néfastes, entre autres sur la mémoire de travail.

Un effet significatif du mercure méthylé est observé, en plus de celui associé aux blocs d'essais, sur la composante de mémoire de référence. En général, tous les groupes de souris

effectuent moins d'erreurs en fonction des sessions mais, étrangement, les souris ayant été exposées au mercure méthylé commettent significativement moins d'erreurs de ce type que les souris contrôles. Puisque les souris ont été exposées à de faibles doses de mercure méthylé dans la présente étude, l'absence de déficits en ce qui a trait à la mémoire et aux fonctions cognitives n'est peut-être pas surprenante. Selon Rice (1996), les résultats de tests évaluant les fonctions cognitives chez les rongeurs sont généralement négatifs ou montrent des effets très faibles à de fortes doses de mercure méthylé.

### **Suggestions pour des recherches futures**

Les résultats observés dans les tâches de Rotarod et de discrimination visuelle, qui démontrent respectivement un effet de retard temporaire suite à une exposition au mercure méthylé sur l'apprentissage de la coordination motrice et une absence de déficit visuoperceptif lié à l'exposition au MeHg ou à la diète de sélénium, ne présentent pas d'ambiguïté. Par contre, les résultats discordants obtenus dans l'Open Field et le Labyrinthe radial suggèrent que certains changements devront être apportés lors des prochaines expérimentations afin de clarifier l'effet d'une exposition prénatale au MeHg et d'une supplémentation en sélénium sur l'exploration ambulatoire et la néophobie (Open Field) ainsi que sur la mémoire de travail et de référence (Labyrinthe radial).

Dans une prochaine étude portant sur l'Open Field, il serait intéressant d'évaluer l'activité exploratoire des souris exposées et non exposées au mercure méthylé sans la présence de nourriture afin d'obtenir un niveau d'activité exploratoire pur et d'éviter toute confusion associée à la présence de nourriture. De plus, il apparaîtrait souhaitable de mesurer l'activité ambulatoire et la néophobie sur plusieurs sessions afin d'évaluer l'évolution temporelle (augmentation ou diminution) de ces deux variables.

Les résultats peu convaincants obtenus dans le Labyrinthe radial mettent en doute la sensibilité de cette tâche dans l'évaluation de la mémoire de référence et de la mémoire de travail à la suite d'une exposition prénatale au MeHg. Il serait intéressant de soumettre les souris à la tâche du Labyrinthe en T modifié de Thomas et Gash (Thomas & Gash, 1986) puisque celle-ci permet aussi l'évaluation simultanée de la mémoire de référence et de la mémoire de travail. La

tâche de l'animal est d'apprendre, d'une part, à toujours choisir le couloir central où se trouve un plancher noir (S+) plutôt qu'un plancher blanc (S-) et, d'autre part, à alterner à l'intérieur d'un même essai d'un compartiment d'arrivée à l'autre (alternance gauche/droite) comme dans la tâche de Labyrinthe en T classique. Le premier apprentissage permet de mesurer la mémoire de référence et le second, la mémoire de travail. Cette tâche diffère de celle du Labyrinthe radial à plusieurs égards. Premièrement, l'animal est confronté à huit possibilités de réponse dans le Labyrinthe radial alors que dans le Labyrinthe en T de Thomas et Gash, il est confronté successivement à deux choix de réponse binaires; le premier choix évalue la mémoire de référence et le second choix, la mémoire de travail. Deuxièmement, l'environnement utilisé dans les deux tâches est très différent. Dans le Labyrinthe radial, les souris doivent élaborer une carte spatiale relativement complexe afin de se souvenir des endroits où se trouve la nourriture. De plus, les éléments à maintenir en mémoire afin de s'orienter à l'intérieur du Labyrinthe radial se situent à l'extérieur de l'appareil tandis que dans le Labyrinthe en T de Thomas et Gash, seule la couleur du plancher des couloirs centraux parallèles doit être maintenue en mémoire de référence afin de réussir la tâche. Le Labyrinthe en T de Thomas et Gash semble donc représenter une option intéressante pour examiner la mémoire de référence et la mémoire de travail lors de recherches futures.

Finalement, il serait intéressant de modifier certains paramètres expérimentaux lors de recherches futures. Puisque la diète à teneur élevée en sélénium a pu produire des effets néfastes chez les souris, il serait intéressant de diminuer légèrement cette teneur. De plus, puisque les effets du mercure méthylé paraissent souvent non significatifs à cause d'une grande variabilité de réponses d'un individu à l'autre, l'utilisation d'une souche de souris consanguine serait aussi pertinente. Finalement, vu le peu d'effets observables à la suite de l'exposition au mercure, une nouvelle fenêtre d'exposition, avec laquelle des effets significatifs ont été observés, pourrait être appropriée lors de recherches futures.

## **Conclusion**

La présente recherche a permis d'observer chez les souris qu'une exposition *in utero* à 8 mg/kg de mercure méthylé aux jours 7, 8 et 9 de gestation retarde temporairement l'apprentissage de la coordination motrice nécessaire à la réussite de la tâche du Rotarod. Cette altération des

fonctions motrices concorde avec la grande majorité des données rapportées dans la littérature (Satoh, Yasudah, & Shimai, 1985; Spyker, Sparber, & Goldberg, 1972; Tanimura et al., 1980; Berthoud, Garman, & Weiss, 1976; Rice, 1996). Par ailleurs, le sélénium administré durant la gestation et jusqu'au jour 21 postnatal n'a pas eu l'effet protecteur escompté sur la coordination motrice. Dans la tâche de discrimination visuelle, la performance des souris s'améliore au cours des sessions mais n'est pas influencée significativement par le mercure méthylé ou le sélénium. Les résultats obtenus dans l'Open Field nous laissent croire que l'activité locomotrice plus marquée observée chez les souris exposées au mercure est due principalement à une consommation plus faible de nourriture comparativement à celle des souris non exposées. Dans le Labyrinthe en T, il semble que la mémoire de travail spatiale et les fonctions frontales ne soient pas affectées par l'exposition au mercure méthylé ou par la supplémentation en sélénium car tous les groupes de souris présentent sensiblement les mêmes résultats en fonction de l'allongement du délai. Une supplémentation en sélénium a, par contre, un effet significatif sur la mémoire de travail dans le Labyrinthe radial. Cependant, les résultats montrent que les souris ayant reçu une diète déficitaire en sélénium commettent généralement moins d'erreurs que les souris ayant reçu une supplémentation de niveau élevé. Un effet significatif du mercure méthylé est observé, en plus de celui sur les blocs d'essais, sur la composante mémoire de référence dans la tâche de Labyrinthe radial. Étrangement, les souris ayant été exposées au mercure méthylé ont commis significativement moins d'erreurs que les souris contrôles. En somme, les principaux résultats mis en évidence par la présente étude sont un retard temporaire dans l'apprentissage de la coordination motrice dans la tâche du Rotarod et une activité locomotrice plus marquée dans l'Open Field, probablement en raison d'une consommation plus faible de nourriture, suite à une exposition au MeHg.

Ainsi, nous avons observé qu'une exposition prénatale au MeHg provoque un retard temporaire de l'apprentissage de la coordination motrice et une plus grande exploration ambulatoire (celle-ci étant en lien avec une plus faible consommation de nourriture dans le cadre de la tâche de l'Open Field). Par ailleurs, il semble que les fonctions visuelles, la mémoire de travail spatiale et les fonctions frontales ne soient pas affectées à la suite d'une telle exposition alors que l'effet de l'exposition prénatale au MeHg sur la mémoire de référence est très incertain.

Finalement, l'ensemble des résultats de la présente expérience ne tend pas vraiment à montrer que le sélénium jouerait un rôle protecteur contre les effets néfastes du MeHg.



## ANNEXE

## ILLUSTRATIONS DES APPAREILS UTILISÉS

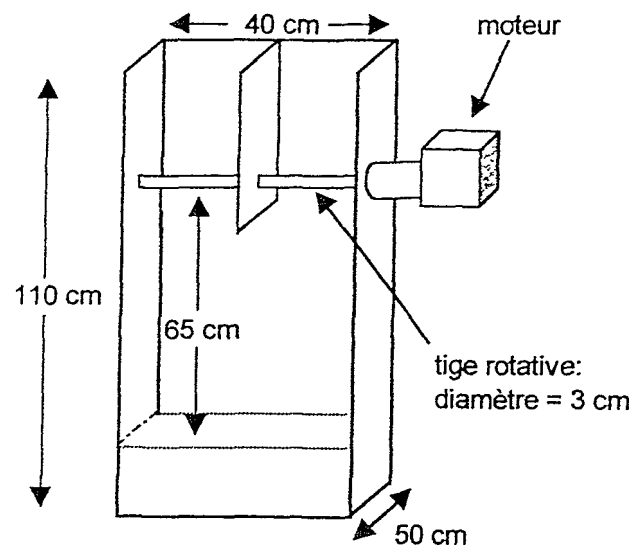


Figure 1. Rotarod (vue de face)

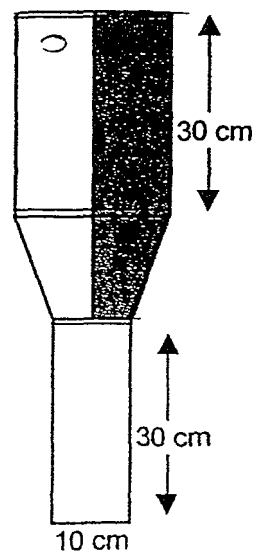


Figure 2. Labyrinthe en Y (vue de dessus)

## ILLUSTRATIONS DES APPAREILS UTILISÉS (SUITE)

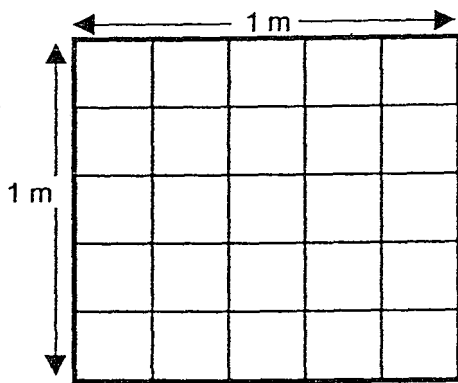


Figure 3. Open Field (vue de dessus)

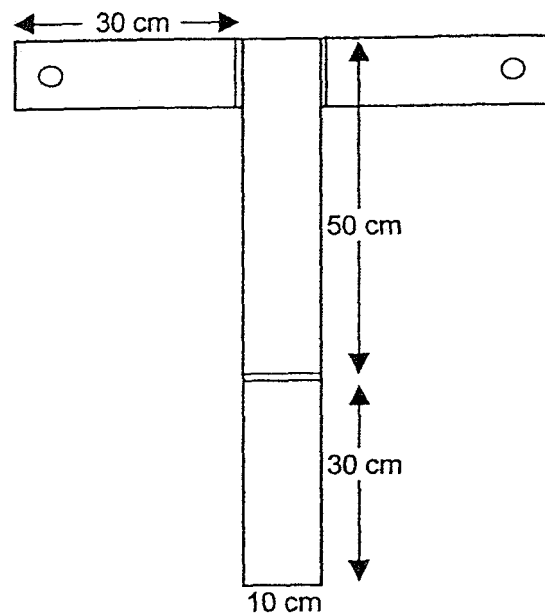


Figure 4. Labyrinthe en T (vue de dessus)

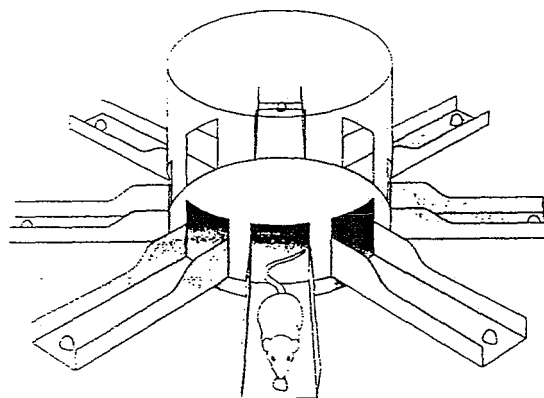


Figure 5. Labyrinthe radial

Ce schéma n'est pas à l'échelle. Référez à la section Matériel du présent ouvrage pour obtenir les dimensions réelles de l'appareil.

Tiré de : Bear, M. F., Connors, B. W., Paradiso, M. A. (1997). *Neurosciences : À la découverte du cerveau*. France : Masson-Williams & Wilkins.

## Références bibliographiques

- Amin-Zaki, L., El-Hassani, S. B., Majeed, M. A., Clarkson, T. W., Doherty, R. A., & Greenwood, K. R. (1974). Studies of infants postnatally exposed to methylmercury. *Journal of Pediatrics*, 85, 81-84.
- Annau, Z., & Cuomo, V. (1988). Mechanisms of neurotoxicity and their relationship to behavioral changes. *Toxicology*, 49, 219-225.
- Bakulina, A. V. (1968). The effect of a subacute ethylmercury coated grain poisoning of the progeny. *Sovetskaya Meditsina*, 31, 60-63.
- Balthrop, J., Wade, J., & Braddon-Galloway, S. (1986). Mercury distribution studies involving complexes of low-molecular weight thiols and methylmercury. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 37, 890-898.
- Berlin, M., Grant, C. A., Hellberg, J., Hellstrom, J., & Schutz, A. (1975). Neurotoxicity of methylmercury in squirrel monkeys. *Archives of Environmental Health*, 30, 340-348.
- Berthoud, H. R., Garman, R. H., & Weiss, B. (1976). Food intake, body weight, and brain histopathology in mice following chronic methylmercury treatment. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 36, 19-30.
- Buelke-Sam, J., Kimmel, C. A., Adams, J., Nelson, C. J., Vorhees, C. V., Wright, D. C., Stomer, V., Karol, B. A., Butcher, R. E., Geyer, M. A., Holson, J. F., Kutscher, C., & Wayner, M. J. (1985). Collaborative behavioral teratology study : results. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology*, 7, 591-624.
- Burbacher, T. M., Rodier, P. M., & Weiss, B. (1970). Methylmercury developmental neurotoxicity : a comparison of effects in humans and animals. *Neurotoxicology and Teratology*, 12, 191-202.
- Burns, L.H., Annett, L., Kelley, A.E., Everitt, B.J., & Robbins, T.W. (1996). Effects of lesions to amygdala, ventral subiculum, medial prefrontal cortex, and nucleus accumbens on the reaction to novelty: implication for limbic-striatal interactions. *Behavioral Neuroscience*, 110, 60-73.
- Cagiano, R., De-Salvia, M. A., Renna, G., Torella, E., Braghiroli, D., Parenti, C., Zanolli, P., Baraldi, M., Annau, Z., & Cuomo, V. (1990). Evidence that exposure to methyl mercury during

gestation induces behavioral and neurochemical changes in offspring of rats. *Neurotoxicology and Teratology*, 12, 23-28.

Castano, A., Ayala, A., Rodriguez-Gomez, J., De La Cruz, C., Cano, R., & Machado, A. (1995). Increase in dopamine turnover and tyrosine hydroxylase enzyme in hippocampus of rats fed on low selenium diet. *Journal of Neuroscience Research*, 42, 684-691.

Castano, A., Cano, J., & Machado, A. (1993). Low selenium diet affects monoamine turnover differentially in substantia nigra and striatum. *Journal of Neurochemistry*, 61, 1302-1307.

Chang, L. W. & Guo, G. L. (1998). Fetal Minamata disease : congenital methylmercury poisoning. Dans W. Slikker, & L. W. Chang (Eds.), *Handbook of developmental neurotoxicology* (pp. 507-515). New York : Academic Press.

Chang, L. W., Wade, P. R., Pounds, J. G., & Reuhl, K. R. (1980). Prenatal and neonatal toxicology and pathology of heavy metals. Dans A. Goldin, F. Hawking, I. J. Kopin, & R. J. Schnitzer (Eds.), *Advances in pharmacology and chemotherapy*, vol 17 (pp. 195-231). New York : Academic Press.

Choi, B. H. (1986). Methylmercury poisoning of the developing nervous system : I. Pattern of neuronal migration in the cerebral cortex. *Neurotoxicology*, 7, 591-600.

Combs Jr., G. F. & Combs, S. B. (1986). *The role of selenium in nutrition*. Orlando : Academic Press, inc.

Cuomo, V. L., Ambrosi, L., Annau, Z., Cagiano, R., Brunello, N., & Racgni, G. (1984). Behavioural and neurochemical changes in offspring of rats exposed to methyl mercury during gestation. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology*, 6, 249-254.

Dellinger, J., Malek, L., & Beattie, M. (1995). Mercury contamination of fish in the Ojibwa diet : II. Sensory evoked responses in rats fed walleye. *Water, Air, and Soil Pollution*, 80, 77-83.

Diplock, A. T. (1976). Metabolic aspects of selenium action and toxicity. *CRC Critical Review in Toxicology*, 4, 271-329.

Doi, R. (1979). Introduction - III : Review on the studies on organic mercury poisoning and discussions from the view point of social medicine. Dans S. Arima (Eds.), *Minamata disease – studies during these 20 years and problems remained for today* (pp. 49-77). Tokyo : Seirinsha.

Eccles, C. U., & Annau, Z. (1982). Prenatal methyl mercury exposure : II. Alterations in learning and psychotropic drug sensitivity in adult offspring. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology*, 4, 377-382.

Elsner, J. (1986). Testing strategies in behavioral teratology : III. Microanalysis of behavior. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology*, 8, 573-584.

Elsner, J., Suter, K. E., Ulbrich, B., & Schnreiner, G. (1986). Testing strategies in behavioral teratology : IV. Review and general conclusion. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology*, 8, 585-590.

Engleson, G., & Heiner, T. (1952). Alkylmercury poisoning. *Acta Paediatrica*, 41, 289-294.

Evans, H. L., Laties, V. G., & Weiss, B. (1974). Behavioral effects of methylmercury. *Proceedings of First Annual N. S. F. Trace Contaminants Conference* (pp. 534-540). Oak Ridge, Tenn., U. S. Atomic Energy Comm.

Fibiger, H. C. (1991). Cholinergic mechanisms in learning, memory and dementia : a review of recent evidence. *Trends in Neurosciences*, 14, 220-223.

Fredricksson, A., Dahlgren, L., Danielsson, B., Eriksson, B., Dencker, L., & Archer, T. (1992). Behavioural effects of neonatal metallic mercury exposure in rats. *Toxicology*, 74, 151-160.

Fredriksson, A., Gardlund, A.T., Bergman, K., Oskarsson, A., Ohlin, B., Danielsson, B., Archer, T. (1993). *Pharmacology and Toxicology*, 72, 377-382.

Glynn, A. W., Ilback, N. G., Brabencova, D., Carlsson, C., Enquist, E. C., Netzel, E., & Oskarsson, A. (1993). Influence of sodium selenite on 203Hg absorption, distribution, and elimination in male mice exposed to methyl203Hg. *Biological Trace Element Research*, 39, 91-107.

Goldey, E. S., O'Callaghan, J. P., Stanton, M. E., Barone, S. Jr., & Crofton, K. M. (1994). Developmental neurotoxicity : evaluation of testing procedures with methylazoxymethanol and methylmercury. *Fundamental and Applied Toxicology*, 23, 447-464.

Grandjean, P., Jorgensen, P. J., & Weihe, P. (1994). Methylmercury from mother's milk : accumulation in infants. *Environmental Health Perspectives*, 102, 74-77.

Grandjean, P., Weihe, P., White, R. F., Debes, F., Araki, S., Yokoyama, K., Murata, K., Sorensen, N., Dahl, R., & Jorgensen, P. J. (1997). Cognitive deficit in 7-year-old children with prenatal exposure to methylmercury. *Neurotoxicology and Teratology*, 19, 417-428

Hansen, J. C., Tarp, U., & Bohm, J. (1990). Prenatal exposure to methyl mercury among Greenlandic Polar Inuits. *Archives of Environmental Health*, 45, 355-358.

Hingtgen, J. N. & Aprison, M. H. (1976). Behavioral and environmental aspects of the cholinergic system. Dans A. M. Goldberg, & I. Hanin (Eds.), *Biology of cholinergic function* (pp. 515-566). New York : Raven Press.

Hughes, J.A. & Annau, Z. (1976). Postnatal behavioral effects in mice after prenatal exposure to methylmercury. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 4, 385-391.

Hughes, J. A. & Sparber, S. B. (1978). D-Amphetamine unmasks postnatal consequences of exposure to methylmercury *in utero* : methods for studying behavioral teratogenesis. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 8, 365-375.

Kim, C., Nakai, K., Kasanuma, Y., & Satoh, H. (2000). Comparison of neurobehavioral changes in three inbred strains of mice prenatally exposed to methylmercury. *Neurotoxicology and Teratology*, 22, 397-403.

Kobayashi, H., Yuyama, A., Matsusaka, N., Takeno, K., & Yanagiya, I. (1980). Effect of methylmercury on brain acetylcholine concentration and turnover in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 54, 1-8.

Koji, M. (1996). Effects of methylmercury on the brain acetylcholine levels and the conditioned avoidance behavior in rats and mice. *Medical Journal of Kagoshima University*, 48, 41-49.

Kunhert, P., M., Kunhert, B. R., & Erhard, P. (1981). Comparison of mercury levels in maternal blood, fetal cord blood, and placental tissues. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 139, 209-213.

Lindström, H., Luthman, J., Oskarsson, A., Sundberg, J., & Olson, L. (1991). Effects of long-term treatment with methyl mercury on the developing rat brain. *Environmental Research*, 56, 158-169.

Magos, L. (1987). The absorption, distribution, and excretion of methylmercury. Dans C. U. Eccles, & Z. Annau (Eds.). *The toxicity of methylmercury* (pp. 22-44). Baltimore : John Hopkins.

Mahaffey, K. R. (1999). Methylmercury : a new look at the risks. *Public Health Reports*, 114, 396-399, 402-413.

Malm, O., Branches, F. J., Akagi, H., Castro, M. B., Pfeiffer, W. C., Harada, M., Bastos, W. R., & Kato, H. (1995). Mercury and methylmercury in fish and human hair from the Tapajos river basin, Brazil. *Science of the Total Environment*, 175, 141-150.

Marier, J. R. & Jaworski, J. F. (1983). *Interactions du sélénium avec d'autres éléments*. Conseil National de Recherches du Canada.

Merigan, W. H. (1980). Visual fields and licker thresholds in methylmercury-poisoned monkeys. Dans W. H. Merigan, & B. Weiss, (Eds.). *Neurotoxicity of the visual system* (pp. 149-163). New York : Raven Press.

Morganti, J. B., Lown, B. A., Salvaterra, P., & Massaro, E. J. (1976). Effects on open-field behavior of mice exposed to multiple doses of methyl mercury. *General Pharmacology*, 7, 41-44.

Mottet, N. K. (1974). Effects of chronic low-dose exposure of rats fetuses to methylmercury hydroxide. *Teratology*, 10, 173-189.

Murakami, U. (1972). The effect of organic mercury on intrauterine life. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 27, 301-336.

National Research Council, Committee on Dietary Allowances. (1980). *Recommended dietary allowances, 9<sup>th</sup> review edition*. Washington : National Academy of Sciences.

Neumann, C. M., Kaufman, K. W., & Gilroy, D. J. (1997). Methylmercury in fish from Owyhee Reservoir in southeast Oregon : scientific uncertainty and fish advisories. *Science of the Total Environment*, 204, 205-214.

Nielsen, J. B., & Andersen, O. (1992). Transplacental passage and fetal deposition of mercury after low-level exposure to methylmercury-effect of seleno-L-methionine. *Journal of Trace Elements and Electrolytes in Health and Disease*, 6, 227-232.

Nishikido, N., Furuyashiki, K., Naganuma, A., Suzuki, T., & Imura, H. (1987). Maternal selenium deficiency enhances the fetolethal toxicity of methyl mercury. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 88, 322-328

Olson, K., & Boush, G. M. (1975). Decreased learnig capacity in rats exposed prenatally and postnatally to low doses of mercury. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 13, 73-79.

Pierce, P. E., Thompson, J. F., Likosky, W. H., Nickey, L. N., Barthel, W. F., Hinman, A. R. (1972). Alkylmercury poisoning in humans : report of an outbreak. *Journal. American Medical Association*, 220, 1439-1442.

- Rice, D. C. (1989). Delayed neurotoxicity in monkeys exposed developmentally to methylmercury. *Neurotoxicology*, 10, 645-50.
- Rice, D.C. (1996). Sensory and cognitive effect of developmental methylmercury exposure in monkeys, and a comparison to effects in rodents. *Neurotoxicology*, 17, 139-154.
- Rossi, A. D., Ahlbom, E., Ogren, S. O., Nicotera, P., & Ceccatelli, S. (1997). Prenatal exposure to methylmercury alters locomotor activity of male but not female rats. *Experimental Brain Research*, 117, 428-436.
- Satoh, H., & Suzuki, T. (1979). Effects of sodium selenite on methylmercury distribution in mice of late gestational period. *Archives of Toxicology*, 42, 275-279.
- Satoh, H. N., Yasuda, N., & Shimai, S. (1985). Development of reflexes in neonatal mice prenatally exposed to methylmercury and selenite. *Toxicology Letters*, 25, 199-203.
- Schalock, R. L., Brown, W. J., Kark, R. A. P., & Menon, N. K. (1981). Perinatal methylmercury intoxication : behavioral effects in rats. *Developmental Psychobiology*, 14, 213-219.
- Snyder, R. D. (1971). Congenital mercury poisoning. *New England Journal of Medicine*, 18, 1014-1016.
- Snyder, R. D. (1972). The involuntary movements of chronic mercury poisoning. *Archives of Neurology*, 26, 379-381.
- Sobotka, T. J., Cook, M. P., & Brodie, R. E. (1974). Effects of perinatal exposure to methylmercury on functional brain development and neurochemistry. *Biological Psychiatry*, 8, 307-320.
- Spyker, J. M. (1975). Behavioral teratology and toxicology. Dans B. Weiss, & V. Laties (Eds.). *Behavioral toxicology* (pp. 311-350). New York : Plenum.
- Spyker, J. M., & Smithberg, M. (1972). Effects of methylmercury on prenatal development in mice. *Teratology*, 5, 181-190.
- Spyker, J. M., Sparber, S. B., & Goldberg A. M. (1972). Subtle consequences of methylmercury exposure : behavioral deviations in offspring of treated mothers. *Science*, 177, 621-623.
- Su, M. Q., & Okita, G. T. (1976). Behavioral effects on the progeny of mice treated with methylmercury. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 38, 195-205.



Takeuchi, T. (1979). Introduction - II : Advance of the pathological study on Minamata disease-investigation of unknown disease and revelation of causal agent, organic mercury. Dans Arima, S. (Eds.). *Minamata disease-studies during these 20 years and problems remained for today* (pp.27-48). Tokyo : Seirinsha.

Tanimura, T. E., Ema, E., & Kihara, T. (1980). Effects of combined treatment with methylmercury and polychlorinated biphenyls (PCBs) on the development of male offspring. Dans T. V. N. Persaud (Eds.). *Neural and Behavioral Teratology* (pp.163-198). Lancaster, P. A. : M. T. P. Press.

Thomas, G. J., & Gash, D. M. (1988). Differential effects of hippocampal ablations on dispositional and representational memory in the rat. *Behavioral Neuroscience*, 102, 635-642.

Vandewater, L. J. S. & Racz, W. J., Norris, A. R., & Buncel, E. (1983). Methylmercury distribution, metabolism, and neurotoxicity in the mouse brain. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 61, 1487-1493.

Vather, M. E., Mottet, N. K., Friberg, L. T., Lind, S. B., Charleston, J. S., & Burbacher, T. M. (1995). Demethylation of methyl mercury in different brain sites of *Macaca fascicularis* monkeys during long-term subclinical methyl mercury exposure. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 134, 273-284.

Yin, K., Watanabe, C., Inaba, H., & Satoh, H. (1997). Growth and behavioral changes in mice prenatally exposed to methylmercury and heat. *Neurotoxicology and Teratology*, 19, 1-7.

Watanabe, C., Kasanuma, Y., & Satoh, H. (1997). Deficiency of selenium enhances the K<sup>+</sup>-induced release of dopamine in the striatum of mice. *Neuroscience Letters*, 236, 49-52.

Watanabe, C. & Satoh, H. (1994). Brain selenium status and behavioral development in selenium-deficient preweanling mice. *Physiology and Behavior*, 56, 927-932.

Watanabe, C., & Satoh, H. (1995). Effects of prolonged selenium deficiency on open field behavior and Morris water maze performance in mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 51, 747-752.

Watanabe, C., & Satoh, H. (1996). Evolution of our understanding of methylmercury as a health threat. *Environmental Health Perspectives*, 104, 367-379.

Watanabe, C., Yin, K., Kasanuma, Y., & Satoh, H. (1999). In utero exposure to methylmercury and Se deficiency converge on the neurobehavioral outcome in mice. *Neurotoxicology and Teratology*, 21, 83-88.

WHO. (1990). Effects on man. Dans World Health Organization (Eds.). *Environmental health criteria 101 : methylmercury* (pp. 68-99). Geneva.