



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints> ID : 17875

To cite this version :

Mindeguia, Pierre. *Développement d'un modèle toxicocinétique pour évaluer l'exposition fœtale au bisphénol A et au bisphénol A-glucuronide*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2017, 91 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

DÉVELOPPEMENT D'UN MODÈLE TOXICOCINÉTIQUE POUR ÉVALUER L'EXPOSITION FŒTALE AU BISPHÉNOL A ET AU BISPHÉNOL A-GLUCURONIDE

THÈSE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

MINDEGUIA Pierre
Né le 24 avril 1991 à BAYONNE (64)

Directeur de thèse : Mme Véronique GAYRARD

JURY

PRESIDENT :
M. Jean PARINAUD

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSEESSEURS :
Mme Véronique GAYRARD
Mme Nicole HAGEN-PICARD

Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt
ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Directrice : **Madame Isabelle CHMITELIN**

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **MILON Alain**, *Microbiologie moléculaire*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootchnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS 2° CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie Vétérinaire*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique, animaux d'élevage*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*

M **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*

Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*

Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*

M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*

M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*

M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*

M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*

M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*

Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*

Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*

Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*

Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*

Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*

Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*

M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*

M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*

M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*

Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*

Mme **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*

M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*

Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*

M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*

Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*

M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*

M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*

Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*

Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*

M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*

M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*

Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*

Mme **PRADIER Sophie**, *Médecine interne des équidés*

M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*

M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*

Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

Mme **COSTES Laura**, *Hygiène et industrie des aliments*

Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*

Mme **SABY-CHABAN Claire**, *Gestion de la santé des troupeaux bovins*

À Monsieur le Professeur Jean Parinaud

Professeur à la faculté de médecine de l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Praticien à l'hôpital Paule de Viguier

Médecine de la reproduction

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse.

Hommages respectueux.

À Madame le Professeur Véronique Gayrard

Professeur de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

Physiologie et thérapeutique

Qui m'a fait l'honneur de diriger ma thèse.

Tous mes plus sincères remerciements pour le temps passé et les conseils prodigués tout au long de l'élaboration de cette thèse.

À Madame le Professeur Nicole Hagen-Picard

Professeur de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie de la reproduction

Qui m'a fait l'honneur d'accepter de participer à mon jury de thèse.

Pour son aide au cours de ce projet.

Sincère reconnaissance.

À toute l'équipe du service de physiologie de l'ENVT,
Tous mes remerciements pour votre accueil et votre gentillesse tout au long de ce
projet de recherche auquel vous m'avez permis de participer.

À Glenn Gauderat,
Toute ma reconnaissance pour ton aide et tes nombreuses explications au cours de
ce projet.

Valorisation scientifique

Ce travail a été réalisé à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse, au sein de l'équipe « gestation et perturbateurs endocriniens » de l'unité de recherche UMR 1331 Toxalim.

Communications affichées :

- GAUDERAT G., PICARD-HAGEN N., **MINDEGUIA P.**, TOUTAIN P.-L., LACROIX M. Z., VIGUIE C., PUEL S., GAYRARD V. (2014). Impact of feto-placental metabolic processes on the internal fetal exposure to bisphenol A. Gordon Research Conference on Environmental Endocrine Disruptors. Lucca (Barga), Italy.
- GAUDERAT G., PICARD-HAGEN N., **MINDEGUIA P.**, TOUTAIN P.-L., LACROIX M. Z., VIGUIE C., PUEL S., GAYRARD V. (2015). Evidence of hydrolysis of bisphenol A-glucuronide in the ovine fetal-amniotic unit. 8th Copenhagen Workshop on Endocrine Disruptors. Copenhagen, Danemark.

Publications :

- GAUDERAT G., PICARD-HAGEN N., TOUTAIN P.-L., CORBEL T., VIGUIE C., PUEL S., LACROIX M. Z., **MINDEGUIA P.**, BOUSQUET-MELOU A., GAYRARD V. (2015), Bisphenol A glucuronide deconjugation is a determining factor of fetal exposure to bisphenol A. *Environment International*, **86** (2016) : 52-59.

Table des matières

Introduction générale	21
Étude bibliographique	23
1. Présentation du bisphénol A	23
1.1. Historique du bisphénol A.....	23
1.2. Propriétés physico-chimiques du bisphénol A	23
1.3. Utilisation du bisphénol A	25
1.4. Réglementation relative au bisphénol A	26
2. Toxicocinétique du bisphénol A	28
2.1. Clairance et métabolisme	28
2.2. Absorption, biodisponibilité et distribution.....	31
2.3. Élimination.....	33
3. Exposition humaine au BPA	34
3.1. Exposition externe au bisphénol A.....	34
3.2. Exposition interne au bisphénol-A	35
3.3. Controverse sur l'exposition au BPA.....	37
4. Exposition fœtale au BPA	38
4.1. Particularités physiologiques fœtales.....	38
4.2. Le modèle du fœtus ovin.....	40
4.3. Connaissances sur l'exposition fœtale au BPA.....	42
4.3.1. Données de biosurveillance de l'exposition fœtale au BPA.....	42
4.3.2. Toxicocinétique fœtale du BPA	42
5. Objectifs de l'étude	45
Étude expérimentale	46
1. Matériel et méthode	46
1.1. Matériel de prélèvement et de préparation	46

1.2. Produits chimiques	46
1.2.1. Bisphénol A	46
1.2.2. Bisphénol A glucuronide	46
1.3. Animaux	47
1.4. Plan expérimental	47
1.4.1. Expérience 1	47
1.4.2. Expérience 2.....	50
1.5. Administrations, collecte et traitement des échantillons	52
1.6. Dosage du BPA, BPAG et BPAS	52
1.7. Analyse toxicocinétique	53
1.7.1. Calcul des paramètres toxicocinétiques	53
1.7.1.1. <i>Clairance</i>	53
1.7.1.2. <i>Degré d'augmentation de l'exposition</i>	54
1.7.1.3. <i>Temps moyen de résidence</i>	55
1.7.1.4. <i>Volume de distribution</i>	56
1.7.1.5. <i>Temps de demi-vie</i>	56
1.7.1.6. <i>Coefficient d'accumulation</i>	56
1.7.2. Estimation du métabolisme foetal et des échanges mère/foetus	57
1.8. Simulation des concentrations plasmatiques maternelles et fœtales de BPA et de BPAG	58
2. Résultats	59
2.1. Expérience 1	59
2.1.1. Administrations fœtales de BPA et de BPAG	59
2.1.1.1. <i>Données fœtales</i>	60
2.1.1.2. <i>Données maternelles</i>	61
2.1.2. Administrations aux brebis adultes de BPA et de BPAG	62
2.1.3. Évaluation des paramètres toxicocinétiques.....	64

2.2. Expérience 2	65
2.2.1. Données fœtales	66
2.2.2. Données maternelles.....	67
2.3. Simulation des concentrations plasmatiques maternelles et fœtales de BPA et de BPAG.....	69
2.4. Calcul du degré d'augmentation de l'exposition.....	72
3. Discussion.....	74
3.1. Apports de cette étude	74
3.1.1. Devenir du BPA fœtal	75
3.1.2. Contribution du BPAG à l'exposition fœtale.....	76
3.1.3. Caractérisation de l'exposition fœtale au BPA et au BPAG	77
3.2. Intérêt du plan expérimental	77
3.3. Limites du modèle ovin	78
Conclusion	79
Bibliographie.....	81

Table des illustrations

Figures

Figure 1 : Formule semi-développée du BPA	24
Figure 2 : Utilisation des polycarbonates	25
Figure 3 : Utilisation des résines époxydes.....	26
Figure 4 : Clairances plasmatiques mesurées chez plusieurs espèces animales et estimée par approche allométrique chez l'homme	29
Figure 5 : Réaction de glucuroconjugaison du BPA.....	30
Figure 6 : Réaction de sulfoconjugaison du BPA.....	30
Figure 7 : Représentation schématique de l'effet du premier passage hépatique ...	32
Figure 8 : Représentation schématique de l'élimination du BPA	33
Figure 9 : Contributions relatives à l'exposition externe au BPA des voies d'exposition respiratoire, orale et cutanée	35
Figure 10 : Représentation schématique de la circulation sanguine fœtale.....	39
Figure 11 : Modèle toxicocinétique compartimental (6 compartiments) pour le BPA et le BPAG pour une brebis et son fœtus durant la seconde moitié de la gestation	44
Figure 12 : Plan expérimental de la première période de l'expérience 1	49
Figure 13 : Plan expérimental de l'expérience 2	51
Figure 14 : Système toxicocinétique permettant de calculer le degré d'augmentation de l'exposition au BPA.....	55
Figure 15 : Évolution temporelle des concentrations plasmatiques fœtales moyennes (\pm écart-type) de BPA, BPAG et BPAS après administration fœtale IV de BPA puis de BPAG ($21,9 \mu\text{mol.kg}^{-1}$).....	60
Figure 16 : Évolution temporelle des concentrations plasmatiques moyennes (\pm écart-type) de BPA, BPAG et BPAS chez les mères après administration fœtale IV de BPA puis de BPAG ($21,9 \mu\text{mol.kg}^{-1}$)	61
Figure 17 : Évolution temporelle de la concentration urinaire maternelle moyenne (\pm écart-type) de BPAG après administration fœtale IV de BPA puis de BPAG ($21,9 \mu\text{mol.kg}^{-1}$)	62

Figure 18 : Évolution temporelle des concentrations plasmatiques moyennes (\pm écart-type) de BPA, BPAG et BPAS chez les brebis adultes après administration IV de BPA ($21,9 \mu\text{mol.kg}^{-1}$) puis de BPAG ($8,76 \mu\text{mol.kg}^{-1}$) aux brebis	63
Figure 19 : Évolution temporelle de la concentration urinaire moyenne (\pm écart-type) de BPAG après administration IV de BPA ($21,9 \mu\text{mol.kg}^{-1}$) puis de BPAG ($8,76 \mu\text{mol.kg}^{-1}$) aux brebis adultes	64
Figure 20 : Évolution temporelle des concentrations plasmatiques fœtales moyennes de BPA, BPAG et BPAS après 5 administrations IV fœtales répétées de BPAG ($24,8 \mu\text{mol.kg}^{-1}$, 6 heures d'intervalle)	66
Figure 21 : Évolution temporelle des concentrations moyennes dans le liquide amniotique de BPA, BPAG et BPAS après 5 administrations IV fœtales répétées de BPAG ($24,8 \mu\text{mol.kg}^{-1}$, 6 heures d'intervalle).....	67
Figure 22 : Évolution temporelle des concentrations plasmatiques maternelles moyennes de BPA, BPAG et BPAS après 5 administrations IV fœtales répétées de BPAG ($24,8 \mu\text{mol.kg}^{-1}$, 6 heures d'intervalle).....	68
Figure 23 : Évolution temporelle des concentrations urinaires maternelles moyennes de BPAG après 5 administrations IV fœtales répétées de BPAG ($24,8 \mu\text{mol.kg}^{-1}$, 6 heures d'intervalle)	69
Figure 24 : Modèle toxicocinétique compartimental (4 compartiments) pour le BPA et le BPAG sur le modèle de la brebis gravide utilisé pour prédire l'évolution des concentrations de BPA et de BPAG dans un scénario d'administrations répétées de BPA à la mère	70
Figure 25 : Évolution des concentrations plasmatiques maternelles et fœtales prédites de BPA au cours du temps après 16 administrations IV répétées de BPA ($2,5 \text{nmol.kg}^{-1}$, 6 heures d'intervalle) sur un modèle de brebis gravide.....	71
Figure 26 : Évolution des concentrations plasmatiques maternelles et fœtales prédites de BPAG au cours du temps après 16 administrations IV répétées de BPA ($2,5 \text{nmol.kg}^{-1}$, 6 heures d'intervalle) sur un modèle de brebis gravide.....	72
Figure 27 : Modèle toxicocinétique compartimental (4 compartiments) pour le BPA et le BPAG chez la brebis gravide	74

Tableaux

Tableau 1 : Principales propriétés physico-chimiques du BPA	24
Tableau 2 : Estimation des doses internes de BPA (ANSES, 2013).....	36
Tableau 3 : Paramètres toxicocinétiques moyens du BPA et du BPAG chez les fœtus ovins et les brebis adultes déterminés après administration IV de BPA (21,9 $\mu\text{mol.kg}^{-1}$) et de BPAG (fœtus : 21,9 $\mu\text{mol.kg}^{-1}$; adultes : 8,76 $\mu\text{mol.kg}^{-1}$)	64

Liste des abréviations et des acronymes

ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

AUC : Aire sous la courbe des concentrations mesurées au cours du temps

AUMC : Moment d'ordre 1 de la courbe des concentrations en fonction du temps

Bis-GMA : Diméthacrylate glycidique de bisphénol A

BPA : Bisphénol A

BPA-D16 : Bisphénol A marqué au deuterium

BPAG : Bisphénol A-glucuronide

BPAG-13C12 : Bisphénol A-glucuronide marqué au carbone 13

BPAS : Bisphénol A-sulfate

C(t) : Concentration plasmatique à l'instant t

Cl : Clairance

DJA : Dose journalière admissible

ECHA : European Chemicals Agency (Agence européenne des substances chimiques)

EE : Degré d'augmentation de l'exposition

EFSA : European Food Safety Authority (Autorité européenne de sécurité des aliments)

ER : Récepteur des œstrogènes

ERR γ : Estrogen-related receptor gamma

FAO : Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture)

FDA : Food and drug administration (Agence américaine des aliments et des médicaments)

IV : Intraveineux

LOQ : Limite de quantification

MRT : Temps moyen de résidence

NaCl : Chlorure de sodium

NCI : National Cancer Institute (Institut national américain du cancer)

NIEHS : National Institute of Environmental Health Sciences (Institut national américain des sciences de la santé environnementale)

NTP : National Toxicology Program (Programme national américain de toxicologie)

NOAEL : Dose la plus élevée sans effet délétère observable

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PC : Poids corporel

PVC : Polychlorure de vinyle

R : Coefficient d'accumulation

T_{1/2} : Temps de demi-vie

UE : Union Européenne

UI : Unité internationale

Vd : Volume de distribution

Vss : Volume de distribution apparent à l'état de pseudo-équilibre

Introduction générale

Au lendemain de la Seconde Guerre Mondiale, l'industrie chimique a connu un développement sans précédent conduisant à la libération dans l'environnement d'un grand nombre de composés chimiques. L'augmentation concomitante de troubles de la fertilité et de la fonction thyroïdienne dans la faune sauvage ainsi que l'incidence croissante de pathologies liées à des dérèglements hormonaux chez l'homme (en particulier des cancers du sein, de l'utérus, de la prostate, des testicules et de la thyroïde) a conduit au début des années 1990 à l'émergence du concept de perturbateur endocrinien ([Colborn et coll., 1993](#)).

Parmi ceux-ci, le bisphénol A (BPA), composé très présent dans notre environnement domestique, est régulièrement au cœur des débats, tant scientifiques que sociétaux. En effet, plusieurs études suggèrent que la dose de référence pour le BPA (dose journalière admissible ou DJA), établie en 2005 à $50 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ par l'agence américaine des aliments et des médicaments (Food and drug administration, FDA) et par l'autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) serait supérieure aux doses associées à des effets néfastes pour la descendance des individus exposés : dégradation de la fertilité à l'âge adulte ([Cabaton et coll., 2011](#)), hyperplasie de la glande mammaire ([Vandenberg et coll., 2008](#)), trouble du développement du pancréas conduisant à une altération de son fonctionnement ([Whitehead et coll., 2016](#)), défaut de structure de l'émail dentaire ([Jedeon et coll., 2013](#)) ou prédisposition au surpoids ([Rubin et coll., 2001](#)).

Pourtant, actuellement, l'absence de données sur l'exposition du fœtus humain au BPA ne permet pas l'utilisation de ces résultats pour évaluer le risque pour la santé humaine. De plus, le niveau d'exposition de la population humaine au BPA en termes de concentration plasmatique, qui constitue le paramètre le plus pertinent pour l'extrapolation des données de l'animal à l'homme, est aujourd'hui l'objet d'une controverse. En effet, des incohérences ont été rapportées entre le niveau estimé, relativement faible, de la quantité de BPA qui entre quotidiennement dans l'organisme (principalement via l'alimentation) associé à une intense métabolisation du BPA en BPA-glucuronide (BPAG) par le foie, et certaines valeurs élevées de concentrations plasmatiques rapportées chez l'homme. Cette observation a conduit les organismes réglementaires à ne pas prendre en compte les

concentrations plasmatiques de BPA dont les valeurs élevées sont attribuées à des contaminations des échantillons par du BPA omniprésent dans l'environnement (EFSA, 2015).

C'est dans ce contexte où le niveau d'exposition humaine au BPA fait encore débat, en particulier car les mécanismes toxicocinétiques chez le fœtus nous sont encore partiellement inconnus, que nous proposons de développer un modèle toxicocinétique pour évaluer l'exposition fœtale au BPA.

La première partie du manuscrit sera consacrée à une synthèse bibliographique des connaissances actuelles sur le BPA. Dans un premier temps, après une présentation de l'historique de son utilisation et de ses propriétés physico-chimiques, nous examinerons les diverses applications du BPA et la réglementation en vigueur. Nous présenterons ensuite les données concernant les propriétés toxicocinétiques du BPA et l'exposition humaine à celui-ci et examinerons les particularités de la physiologie fœtale qui peuvent influencer la toxicocinétique du BPA chez le fœtus ainsi que les données d'exposition fœtale humaine et de toxicocinétique fœtale obtenues chez l'animal. La seconde partie du manuscrit présentera les études expérimentales réalisées sur la brebis gravide qui avaient pour objectif d'établir les paramètres toxicocinétiques du BPA et de son principal métabolite, le BPAG, dans l'unité fœto-maternelle, nécessaires au développement du modèle toxicocinétique.

Étude bibliographique

1. Présentation du bisphénol A

1.1. Historique du bisphénol A

Le BPA a été synthétisé pour la première fois par Alexandre Dianine (1851-1918) en 1891, par réaction de deux phénols et d'une acétone. Il a ensuite été très étudié au cours des années 1930 dans le cadre de la recherche d'œstrogènes de synthèse. Cette utilisation n'a jamais abouti du fait de la découverte à la même époque d'un autre composé de synthèse, le diéthylstilbestrol, dont les propriétés se révélèrent plus intéressantes ([Beverly et coll., 2009](#)).

Dans les années 1950, le BPA commence à connaître une utilisation dans l'industrie. Ainsi, il a d'abord été utilisé pour produire des résines époxydes servant de revêtement interne des contenants alimentaires métalliques puis à partir des années 1960 comme monomère des plastiques de type polycarbonate. La production globale de BPA n'a ensuite cessé d'augmenter pour atteindre une production de 5,4 millions de tonnes par an en 2015 ([Aster, 2014](#)).

Aujourd'hui, sa présence est considérée comme ubiquitaire dans l'environnement ([Corrales et coll., 2015](#)).

1.2. Propriétés physico-chimiques du bisphénol A

Le bisphénol A est le nom courant du 2,2-bis(4-hydroxyphényl)propane. Il se présente sous la forme de cristaux blancs. Sa formule semi-développée ainsi que ses principales propriétés physico-chimiques sont présentées ci-après dans la figure 1 et le tableau 1 ([Falcu et coll., 2013](#)).

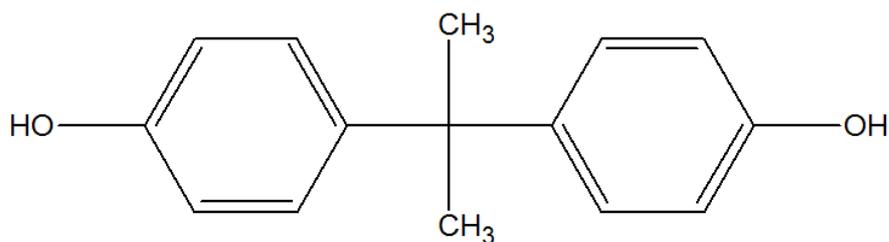


Figure 1 : Formule semi-développée du BPA

Tableau 1 : Principales propriétés physico-chimiques du BPA

Propriétés chimiques	
Formule brute	C ₁₅ H ₁₆ O ₂
Masse molaire	228,29 g.mol ⁻¹
Synonyme	Diphénylolpropane
Propriétés physiques	
Point d'ébullition	250-252°C à 1,7 kPa
Point de fusion	150-157°C
Densité	1,1-1,2 à 25°C
Solubilité dans l'eau	0,12-0,30 g.L ⁻¹ à 25°C

Le BPA est un xœstrogène (composé mimant l'activité de l'œstradiol). Sa structure, qui présente des noyaux phénoliques, lui permet de se lier aux récepteurs des œstrogènes α et β (ER α et β). Par contre, le BPA est considéré comme un agoniste faible des œstrogènes car son affinité pour les récepteurs aux œstrogènes est environ 10 000 fois inférieure à celle de l'œstradiol (Kuiper et coll., 1998).

Plus récemment, il a été montré que l'affinité du BPA pour un autre récepteur, l'ERR γ (Estrogen-related receptor gamma), est environ 1000 fois supérieure à l'affinité pour ER α et β (Tohmé et coll., 2014). Ainsi, des doses plus faibles que celles impliquant une liaison aux récepteurs nucléaires α et β pourraient produire des effets sur le système endocrinien.

1.3. Utilisation du bisphénol A

Le BPA entre principalement dans la fabrication des plastiques de type polycarbonates (65-70 %) et les résines époxydes (30 %). Les figures 2 et 3 montrent les différentes applications de ces plastiques à base de BPA.

Le BPA est aussi utilisé dans les papiers thermiques comme révélateur acide du leuco-colorant de l'encre, en dentisterie dans les composites dentaires qui sont à base de bis-GMA (diméthacrylate glycidique de bisphénol A) ou encore comme additif ou stabilisateur des plastiques de type polychlorure de vinyle (PVC) (ANSES, 2013).

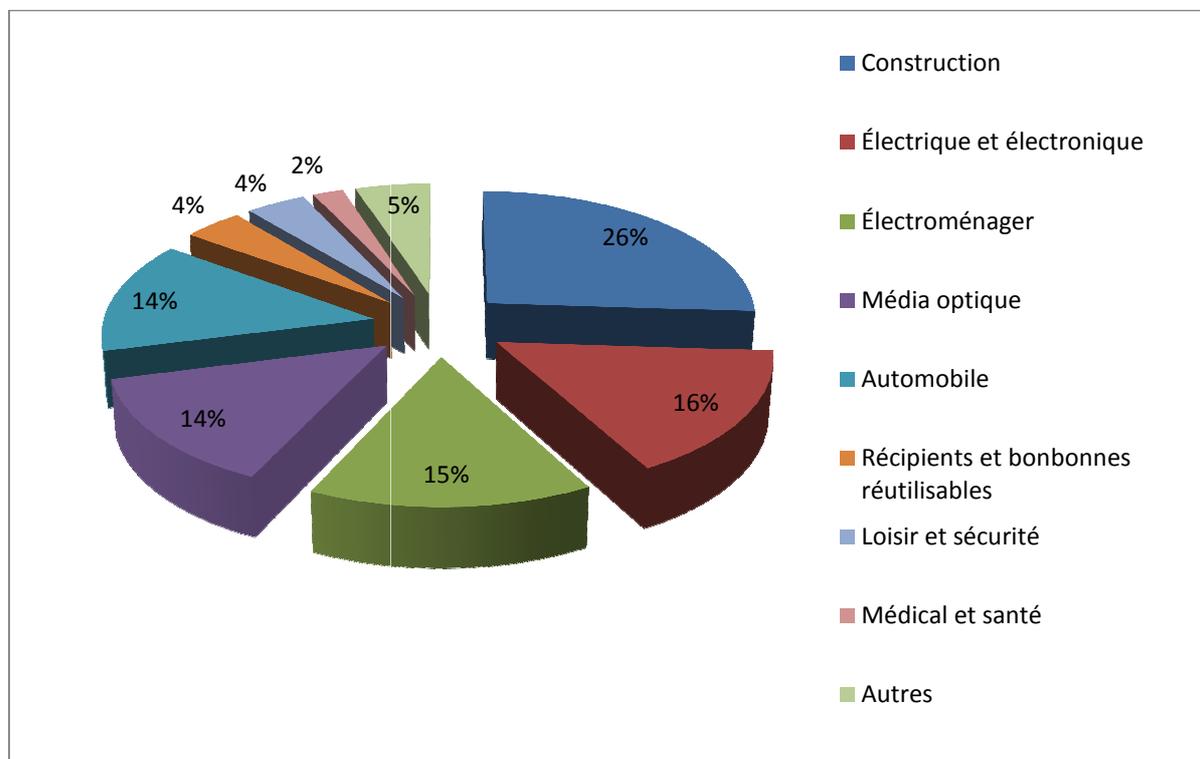


Figure 2 : Utilisation des polycarbonates

Les plastiques de type polycarbonate sont des plastiques transparents caractérisés par leur légèreté, leur rigidité, leur durabilité dans le temps et leur résistance à la chaleur (jusqu'à 125°C). Ces propriétés sont à l'origine de leur utilisation dans un grand nombre de produits de la vie quotidienne (CDs, lunettes, équipement médical...) et dans les bonbonnes des fontaines à eau (ANSES, 2013).

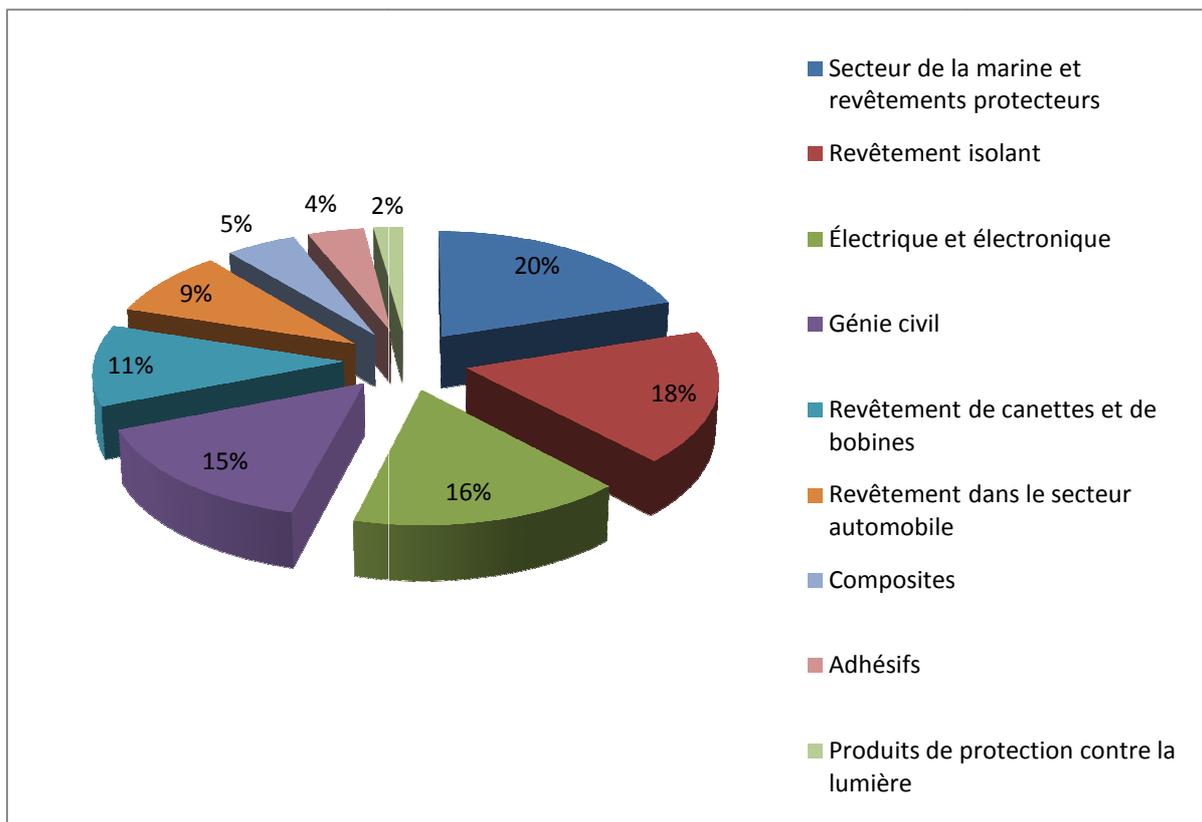


Figure 3 : Utilisation des résines époxydes

Les résines époxydes sont utilisées comme revêtement intérieur de surfaces métalliques et forment ainsi une barrière étanche et protectrice vis-à-vis de la corrosion du métal (ANSES, 2013).

1.4. Réglementation relative au bisphénol A

La dose journalière admissible correspond à la quantité de BPA qui peut être ingérée, chaque jour durant toute une vie, sans effet néfaste appréciable sur la santé.

Au milieu des années 70, le niveau élevé de production de BPA et le grand nombre de travailleurs exposés à ce produit chimique ont attiré l'attention des chercheurs du National Cancer Institute (NCI) qui, en 1977, ont lancé la première étude sur la cancérogénicité du BPA. Les conclusions de cette étude délivrées en 1982 ont fait état de l'absence de preuves convaincantes de la cancérogénicité du BPA. C'est à partir de cette étude sur un modèle rongeur que la FDA a fixé par la suite une DJA de $50 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ (NTP, 1982).

En 2006, l'EFSA a fixé une DJA identique en appliquant un facteur de sécurité de 100 à la dose la plus élevée sans effet délétère observable (NOAEL) et a conclu que le niveau d'exposition humaine au BPA via l'alimentation et les boissons était inférieur à la DJA ([EFSA, 2006](#)).

En 2008, la FDA a évalué les risques associés à l'utilisation du BPA et a maintenu la DJA à $50 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ ([FDA, 2008](#)). Cette évaluation a été remise en cause par un sous-comité consultatif de la FDA qui a accusé l'agence de ne retenir que les données et arguments avancés par les études financées par l'industrie de la plasturgie, créant « *un faux sentiment de sécurité* », alors que de nombreux autres rapports ou études issues du monde académique alertaient sur les risques liés à ce produit ([Philbert et coll., 2008](#)).

Le 17 octobre 2008, le Canada est devenu le premier pays dans le monde à interdire les biberons contenant du BPA. Cette mesure a ensuite été adoptée par l'Union Européenne (UE) en 2011.

En 2011, le rapport de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) relatif aux effets sanitaires et aux usages du BPA concluait à l'existence, d'une part, d'effets avérés chez l'animal (effets sur la reproduction, sur la glande mammaire, sur le métabolisme, sur le cerveau et sur le comportement) et, d'autre part, d'effets suspectés chez l'homme (effets sur la reproduction et sur le métabolisme, pathologies cardiovasculaires) ([ANSES, 2011](#)). Suite à ce rapport, la France a voté la loi n° [2012-1442](#) visant à la suspension de la fabrication, de l'importation, de l'exportation et de la mise sur le marché de tout conditionnement à vocation alimentaire contenant du BPA. L'interdiction a porté sur les conditionnements d'aliments destinés aux nourrissons et enfants en bas âge à partir du 1^{er} janvier 2013 et a été étendue à tous les contenants alimentaires à compter du 1^{er} janvier 2015.

En 2014, le Comité d'évaluation des risques de l'ECHA (Agence européenne des substances chimiques) a délivré un avis final favorable à la demande de l'ANSES de classement du BPA en tant que substance toxique pour la reproduction de catégorie 1B ([ANSES, 2016](#)).

Pourtant, en 2015, l'EFSA a conclu de son côté que le BPA ne présentait pas de risques pour les consommateurs aux niveaux actuels d'exposition mais a proposé de réduire de façon temporaire la DJA à $4 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ (EFSA, 2015bis) en attendant les résultats d'une étude expérimentale à grande échelle, le programme « CLARITY-BPA », initié en 2013 par la FDA en collaboration avec le NTP (National Toxicology Program) et le NIEHS (National Institute of Environmental Health Sciences).

2. Toxicocinétique du bisphénol A

2.1. Clairance et métabolisme

La clairance plasmatique (Cl) est le paramètre toxicocinétique qui décrit la capacité d'élimination d'une molécule par un organisme. Ainsi, une clairance de $\alpha \text{ L.h}^{-1}$ signifie qu'une quantité de molécules équivalente à celle contenue dans $\alpha \text{ L}$ de sang est éliminée en une heure. Seule une approche modélisatrice permet d'estimer la clairance plasmatique du BPA chez l'homme car son évaluation nécessite d'administrer du BPA par voie intraveineuse (IV) à un homme, ce qui n'est pas éthiquement possible.

Collet, en 2005, a ainsi évalué la clairance plasmatique du BPA chez plusieurs espèces, dont le cheval ($0,75 \text{ L.h}^{-1}.\text{kg}^{-1}$), le mouton ($1,6 \text{ L.h}^{-1}.\text{kg}^{-1}$), le cochon ($3,5 \text{ L.h}^{-1}.\text{kg}^{-1}$), le chien ($1,8 \text{ L.h}^{-1}.\text{kg}^{-1}$), le rat ($3,8 \text{ L.h}^{-1}.\text{kg}^{-1}$) et la souris ($2,1 \text{ L.h}^{-1}.\text{kg}^{-1}$). Ainsi, il n'y a pas de différences interspécifiques de clairance du BPA lorsque celle-ci est rapportée au poids corporel (PC).

À partir de ces valeurs, la clairance du BPA chez l'homme a été prédite à $1,54 \text{ L.h}^{-1}.\text{kg}^{-1}$ en utilisant une approche allométrique (figure 4, Collet et coll., 2015).

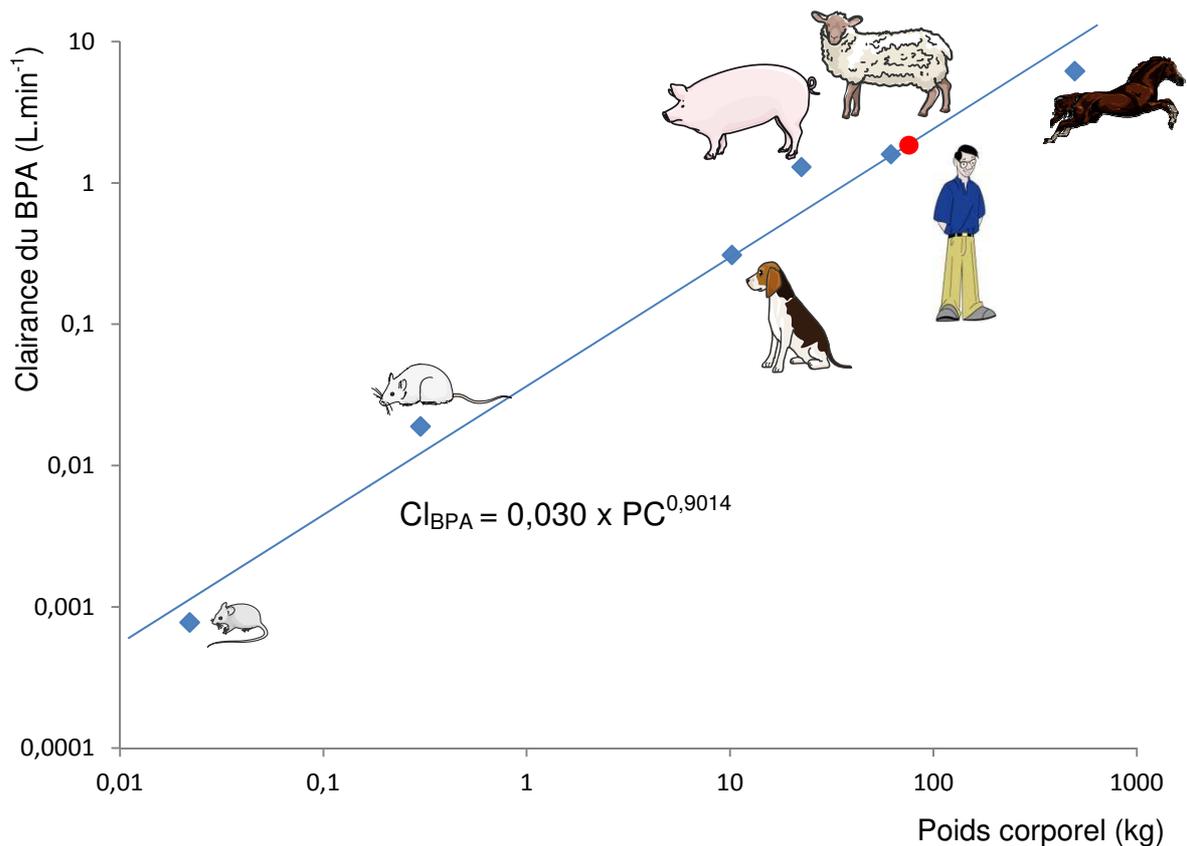


Figure 4 : Clairances plasmatiques mesurées chez plusieurs espèces animales et estimée par approche allométrique chez l'homme

Les données urinaires obtenues dans cette même étude chez les espèces ci-dessus suite à l'administration IV de BPA ont montré que la clairance rénale du BPA est très faible (inférieure à 1 %), ce qui suggère que la clairance du BPA est essentiellement hépatique et met en jeu des réactions métaboliques.

Le métabolisme du BPA fait appel en majorité à des réactions enzymatiques de phase II, c'est-à-dire de conjugaison à un groupement hydrosoluble. Ce type de réaction a lieu majoritairement dans le foie (Inoue et coll., 2001). Ces réactions métaboliques conduisent à des substances dépourvues d'activité œstrogénique et constituent ainsi un mécanisme de détoxification du BPA pour l'organisme (Matthews et coll., 2001).

La glucuronoconjugaison est la principale voie de métabolisation du BPA. Elle consiste en l'ajout d'un acide glucuronique et est catalysée par les UDP-glucuronosyltransférases (figure 5). Le produit obtenu est le bisphénol A mono-β-D-glucuronide (BPAG), de masse molaire 404,41 g.mol⁻¹ (Yokota et coll., 1999).

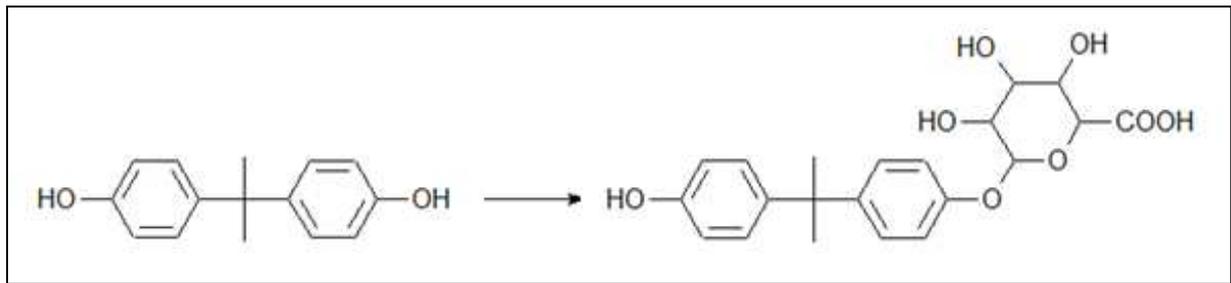


Figure 5 : Réaction de glucuroconjugaison du BPA

La sulfoconjugaison consiste en l'ajout d'un groupement sulfate. Elle est catalysée par les sulfotransférases et permet d'obtenir du BPA-sulfate (BPAS), composé de masse molaire $308,35 \text{ g.mol}^{-1}$ (figure 6).

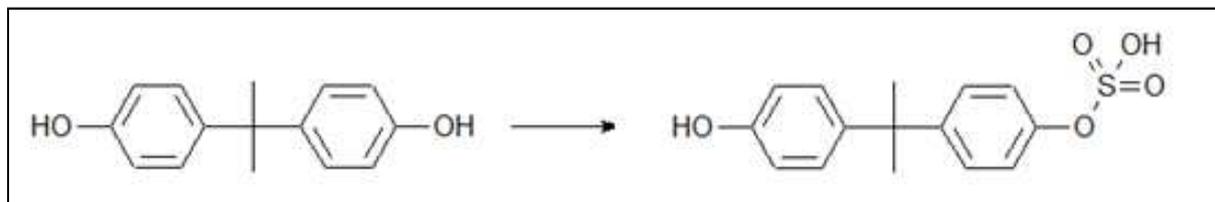


Figure 6 : Réaction de sulfoconjugaison du BPA

Chez l'homme, le BPAS ne représenterait que 10 % des métabolites formés (20 % chez le rat et 18 % chez le singe) (Kurebayashi et coll., 2010).

D'autres métabolites que le BPAG et le BPAS ont été découverts *in vitro* chez la souris : il s'agit de composés di-glucuronides, conjugués-méthoxylés, hydroxylés ou catéchols (Zalko et coll., 2003). La formation de ces métabolites chez l'homme n'a pas été démontrée.

2.2. Absorption, biodisponibilité et distribution

L'absorption rend compte du déplacement d'une substance du site d'administration vers le sang qui draine ce site.

Les principales voies d'exposition au BPA chez l'homme sont la voie orale, la voie cutanée et la voie respiratoire. Des auteurs ont évalué l'absorption digestive du BPA chez l'homme suite à l'administration orale de BPA sous la forme d'un isotope stable du BPA, le BPA marqué au deuterium (BPA-D16). Ces études suggèrent que l'absorption digestive du BPA est quasi-totale puisque 118 ± 21 % de la dose de BPA administrée ont été retrouvées dans les urines sous la forme de BPAG au cours des 24 à 34h suivant l'administration (Völkel et coll., 2002). Ces pourcentages ont été de 84 ± 15 % chez la femme et 97 ± 15 % chez l'homme (Völkel et coll., 2005). Chez le mouton, le chien, le rat, la souris et le porc, l'absorption de BPA administré par voie orale a été évaluée à des valeurs comprises entre 67,1 % (chez le rat) et 100 % (autres espèces) (Collet, 2012).

La biodisponibilité rend compte de la fraction de la dose qui atteint la circulation générale sous forme inchangée. Elle a été estimée pour la voie orale chez le porc, la brebis, le chien, la souris et le rat à des valeurs allant de 1,1 % chez le porc à 6,03 % chez la souris (1,2 % chez la brebis) (Collet, 2012).

Cette très faible biodisponibilité est expliquée par l'intense effet de premier passage hépatique (figure 7) qui inactive la majeure partie du BPA qui atteint le foie. Ainsi, la fraction de BPA atteignant la circulation sanguine correspond à la fraction, très faible, qui échappe à l'effet de premier passage hépatique.

Au contraire, l'absorption du BPA par voie transcutanée (Zalko et coll., 2010) ou sublinguale (Gayrard et coll., 2013) qui permet d'éviter l'effet de premier passage hépatique pourrait conduire à une biodisponibilité du BPA supérieure à celle attendue suite à une absorption digestive.

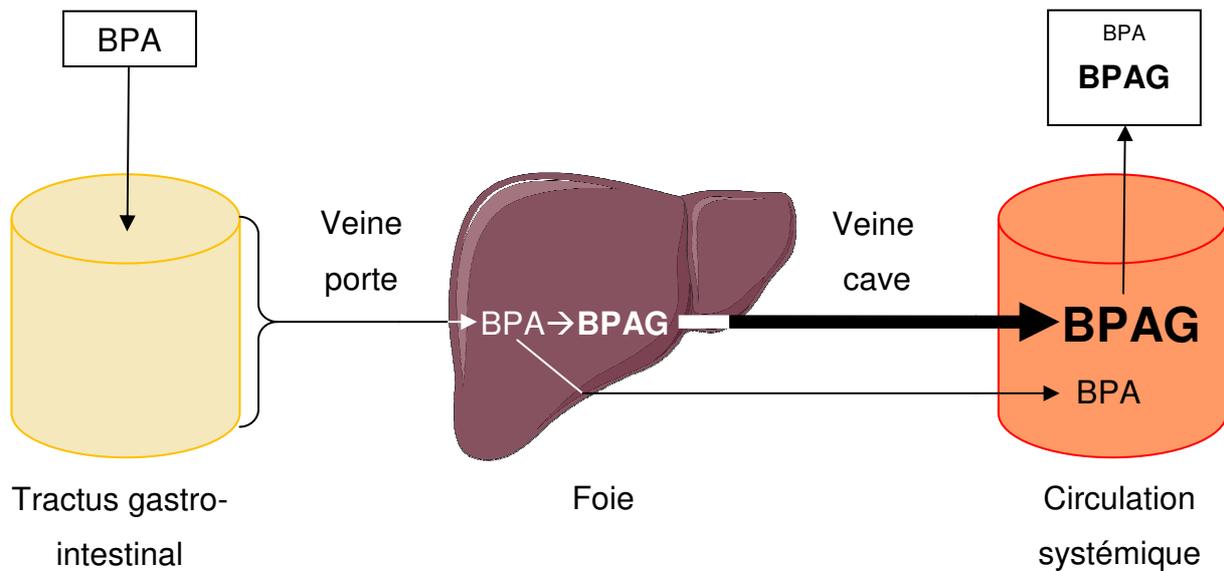


Figure 7 : Représentation schématique de l'effet du premier passage hépatique

Lors d'une administration orale de BPA, celui-ci est absorbé par la muqueuse gastro-intestinale. Il rejoint alors la veine porte qui le conduit au foie où il est métabolisé, principalement en BPAG. Le BPA et ses métabolites rejoignent ensuite la circulation systémique par la veine cave. La métabolisation étant rapide et efficace, la fraction de BPA absorbée par la muqueuse gastro-intestinale et entrant dans la circulation systémique sous forme inchangée est très faible.

Le volume de distribution (V_d) à l'équilibre correspond au volume tissulaire fictif où se distribuerait le métabolite pour être à l'équilibre avec sa concentration plasmatique. Ce volume de distribution a été estimé chez l'Homme à 2 L.kg^{-1} par deux approches : une approche allométrique (Cho et coll., 2002) et un modèle pharmacocinétique fondé sur des paramètres physiologiques (Shin et coll., 2004).

Le BPA est lié à plus de 90 % à des protéines plasmatiques, principalement l'albumine. Sous cette forme, il est biologiquement inactif. Au contraire, la forme libre dans le plasma (environ 5 %) est biologiquement active (Csanady et coll., 2002).

2.3. Élimination

Selon les espèces, les métabolites conjugués du BPA sont éliminés par voie biliaire et/ou urinaire. Ainsi, chez l'homme, Völkel suggère que la totalité du BPAG produit est éliminé dans les urines (Völkel et coll., 2002). Chez les rongeurs, le BPAG est majoritairement éliminé dans la bile et subit un cycle entéro-hépatique (Sakamoto et coll., 2002, figure 8). Ce mécanisme serait à l'origine d'une augmentation de la demi-vie d'élimination du BPA chez les rongeurs.

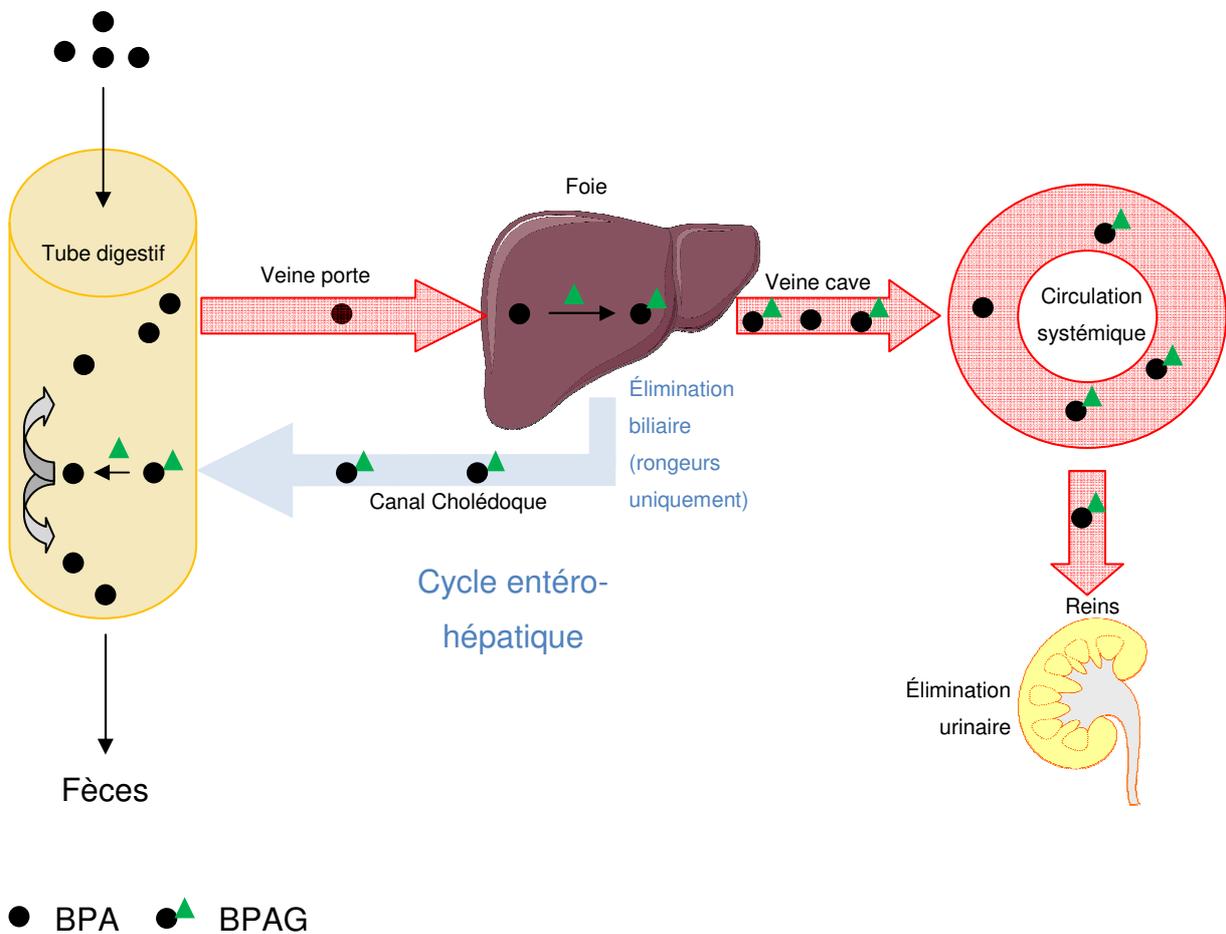


Figure 8 : Représentation schématique de l'élimination du BPA

Chez les rongeurs, le BPA est métabolisé en BPAG dans le foie, dont une partie est excrétée par voie rénale, tandis qu'une autre est excrétée dans la bile. Le BPAG rejoint alors le tube digestif où il subit une hydrolyse, une partie du BPA ainsi reformé étant donc réabsorbée tandis que l'autre partie est éliminée dans les fèces. Chez les autres espèces, tout le BPAG produit est éliminé par voie rénale (Sakamoto et coll., 2002).

3. Exposition humaine au BPA

3.1. Exposition externe au bisphénol A

La voie orale est la principale voie d'exposition, en grande majorité via l'alimentation contaminée par le BPA libéré à partir des contenants alimentaires. Cette contamination se produit par migration de monomères de BPA libérés par hydrolyse des polymères sous l'effet de changement de température (stérilisation, chauffage...) ou de pH. En particulier, une étude a montré que pour un même type d'aliment, ceux conditionnés dans un contenant métallique recouvert de résines époxydes présentaient des concentrations de BPA jusqu'à 100 fois supérieures à ceux conditionnés dans un contenant sans BPA ([Geens et coll., 2010](#)).

Dans son rapport, l'ANSES met en évidence différents niveaux de contamination selon les aliments, les plus contaminés étant les poissons, les viandes et les abats ([ANSES, 2013](#)). La présence de BPA dans l'eau de boisson a également été montrée, y compris dans l'eau courante, la contamination la plus importante ayant été mesurée dans l'eau conditionnée en bonbonne plastique (polycarbonates), particulièrement lorsqu'elle a été soumise aux changements de température ([Le et coll., 2008](#)).

Une contamination par voie cutanée est possible, bien que minoritaire, en particulier via la manipulation de papier thermique (tickets de caisse). Ainsi, l'application de BPA sur un modèle *ex vivo* de peau humaine pendant 24 heures a montré un taux de pénétration de $8,6 \pm 2,1$ % ([Demierre et coll., 2012](#)).

Une contamination par inhalation est également possible : l'air ambiant est contaminé par des poussières contenant du BPA utilisé dans certaines peintures, revêtements de sol, matériels électroniques et électriques. Une étude menée par Geens en 2009 estime que l'exposition par inhalation de poussières contaminées par le BPA aurait une contribution inférieure à 10 % à l'exposition totale humaine au BPA ([Geens et coll., 2009](#)).

En prenant en compte les différentes sources d'exposition, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) ont estimé en 2010 l'exposition humaine moyenne des adultes entre 0,01 et 0,40 $\mu\text{g.kg}_{\text{PC}}^{-1}.\text{j}^{-1}$, l'exposition alimentaire étant majoritaire (FAO et coll., 2010). L'EFSA, dans son rapport de 2015, a estimé des doses un peu plus importantes réparties entre les voies d'exposition orale, cutanée et respiratoire (figure 9).

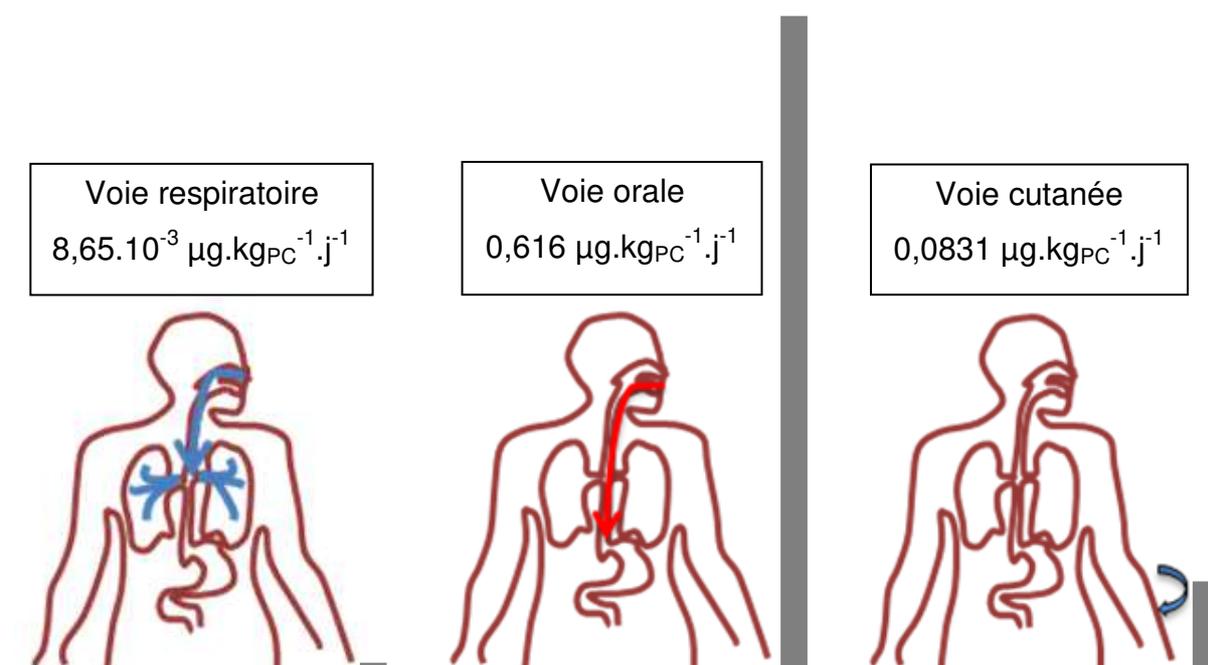


Figure 9 : Contributions relatives à l'exposition externe au BPA des voies d'exposition respiratoire, orale et cutanée

La voie d'exposition orale au BPA est prépondérante (87 %). Elle a pour origine les aliments contenus dans des emballages plastiques, l'eau de boisson et les jouets mis à la bouche par les enfants (très minoritaire). La voie d'exposition cutanée (12 %) est associée à la manipulation des tickets thermiques et à l'application de cosmétiques. L'exposition par voie respiratoire (1 %) résulte de l'inhalation de poussières contenant du BPA (EFSA, 2015).

3.2. Exposition interne au bisphénol-A

L'exposition interne correspond à la dose de BPA absorbé, c'est à dire ayant pénétré dans l'organisme, chez un individu soumis à différentes sources d'exposition externe (orale, cutanée, respiratoire).

En 2013, dans son avis relatif à l'évaluation des risques liés au BPA pour la santé humaine, l'ANSES a évalué les doses internes de BPA pour les différentes voies d'exposition que sont l'inhalation et l'ingestion de poussières, d'aliments et d'eau. Les doses internes de différentes populations ont ainsi été calculées à partir des données estimées de la biodisponibilité pour les différentes voies d'exposition, soit 3 % pour la voie alimentaire (contribution à l'exposition de 70 à 84 %) et 100 % pour la voie respiratoire (contribution à l'exposition de 16 à 30 %) (tableau 2, ANSES, 2013). La prise en compte de la biodisponibilité du BPA explique que ces valeurs d'exposition interne soient bien inférieures aux valeurs d'exposition externe évaluées par l'OMS.

Tableau 2 : Estimation des doses internes de BPA (ANSES, 2013)

Population	Dose interne d'exposition en $\mu\text{g.kg}_{\text{PC}}^{-1}.\text{j}^{-1}$
Femme enceinte	$4,18.10^{-3}$
Enfant	$5,09.10^{-3}$
Adulte	$2,52.10^{-3}$

Les données toxicocinétiques du BPA chez l'homme montrent que le BPA est majoritairement éliminé dans les urines sous la forme de BPAG, et que son élimination complète a lieu en 24 h (Völkel et coll., 2002). On retrouve de plus dans les urines du BPA et du BPAS, tous deux en faible proportion (Pottenger et coll., 2000 ; Liao et coll., 2012). Ce résultat indique que la quantité de BPA total (BPA plus ses métabolites) dans les urines sur 24 h constitue un marqueur pertinent de l'exposition humaine au BPA. Les concentrations urinaires en BPA total rapportées dans différentes études européennes sont similaires, avec des valeurs moyennes comprises entre 1,1 et 3,6 $\mu\text{g.L}^{-1}$. À partir de ces concentrations, la dose interne de BPA total, c'est à dire la quantité de BPA absorbée quotidiennement chez l'adulte, peut être estimée à des valeurs comprises entre 39 et 56 $\text{ng.kg}_{\text{PC}}^{-1}.\text{j}^{-1}$ (EFSA, 2015).

Des études de biosurveillance ont montré l'omniprésence du BPA. Ainsi, du BPA total est détecté dans 92,6 % des échantillons urinaires issus d'une population représentative de la population américaine (Calafat et coll., 2008). Une autre étude, menée sur des enfants allemands, montre une prévalence de détection du BPA dans les urines de 99 % (Becker et coll., 2009).

De plus, plusieurs études ayant évalué les concentrations urinaires de BPA total indiquent une prévalence élevée de l'exposition de la femme au BPA au cours de la grossesse (systématiquement supérieure à 70 %) (Quirós-Alcalá et coll., 2013 ; Arbuckle et coll., 2014 ; Dereumeaux et coll., 2016).

Une autre sous-population à risque est représentée par les caissiers manipulant les tickets thermiques qui ont présenté des concentrations urinaires en BPA total de 8,9 $\mu\text{g.L}^{-1}$ contre 3,5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ pour une population témoin (Ndaws et coll., 2016).

Une étude réalisée aux États-Unis sur 40 femmes enceintes rapporte des concentrations plasmatiques de BPA variant de 0,5 à 22,3 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Padmanabhan et coll., 2008), tandis qu'une seconde réalisée sur 300 femmes coréennes rapporte des mesures échelonnées entre des valeurs en dessous de la limite de quantification et 66,48 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Lee et coll., 2008). Ces valeurs de concentrations plasmatiques élevées sont aujourd'hui soumises à controverse.

3.3. Controverse sur l'exposition au BPA

La controverse actuelle qui oppose les agences règlementaires à une partie de la communauté scientifique est liée à l'incompatibilité entre, d'une part, les données d'exposition au BPA en termes de quantités journalières absorbées établies à partir des données urinaires, à des valeurs très faibles (de l'ordre du $\text{ng.kg}_{\text{PC}}^{-1}.\text{j}^{-1}$) associées à l'effet intense du premier passage hépatique qui inactive la quasi-totalité du BPA absorbé en le convertissant en BPAG, et, d'autre part, des données de concentrations plasmatiques en BPA très élevées (de l'ordre du $\mu\text{g.L}^{-1}$).

Les agences règlementaires ont donc émis l'hypothèse d'une contamination des échantillons étudiés par du BPA ubiquitaire dans l'environnement, refusant de prendre en compte les données des concentrations plasmatiques en BPA dans l'évaluation du risque (EFSA, 2015).

Pourtant, ce positionnement est décrié par une partie de la communauté scientifique qui estime que tous ces résultats ne peuvent pas être entachés d'erreur associée à des contaminations ([Vandenberg et coll., 2014](#)). Ainsi, certains estiment que ces concentrations plasmatiques élevées pourraient être expliquées par une sous-estimation de la biodisponibilité du BPA. En effet, une absorption à travers la muqueuse buccale (et non seulement gastro-intestinale) peut conduire à une augmentation de la biodisponibilité ([Gayrard et coll., 2013](#)).

4. Exposition fœtale au BPA

La toxicocinétique du BPA chez le fœtus présente des particularités par rapport à celle de l'adulte qu'il convient de développer ci-après.

4.1. Particularités physiologiques fœtales

La figure 10 illustre la circulation sanguine fœtale qui présente de nombreuses particularités par rapport à la circulation sanguine de l'adulte.

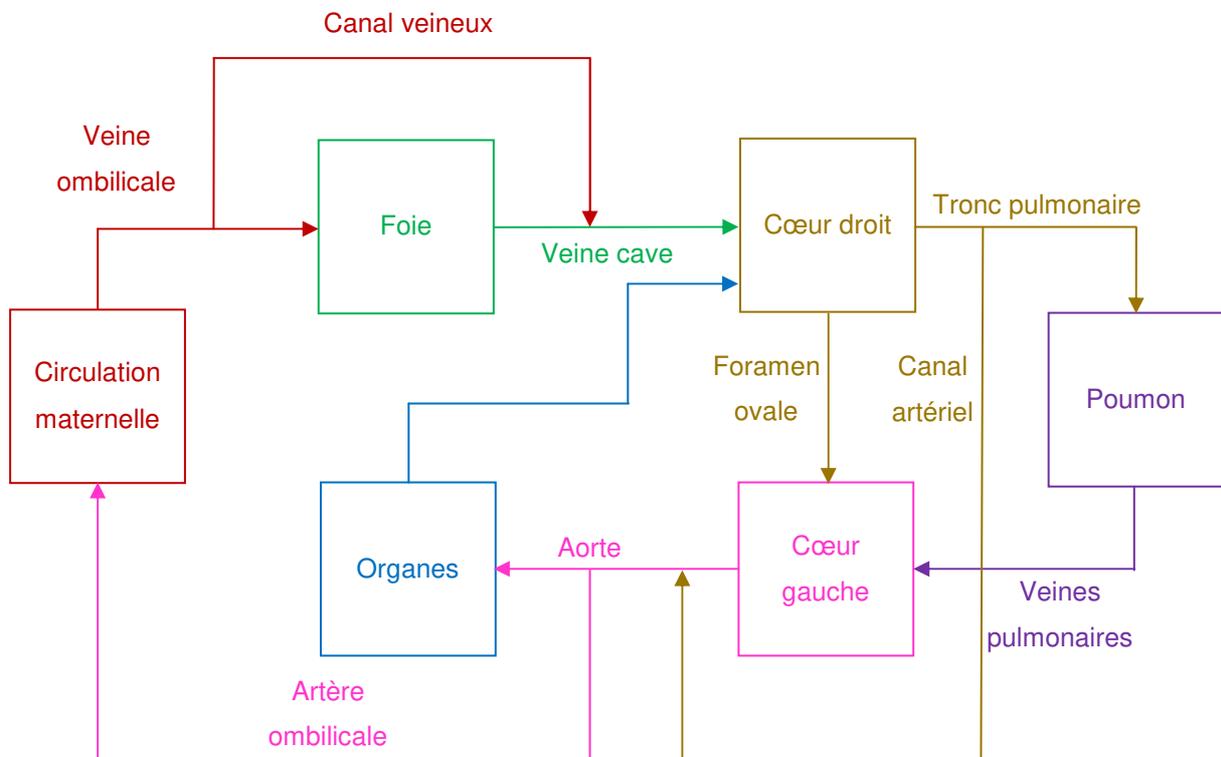


Figure 10 : Représentation schématique de la circulation sanguine fœtale

Le sang enrichi en O₂ et en nutriments est apporté au fœtus par la veine ombilicale. Le foie est en partie court-circuité par le canal veineux (anciennement canal d'Arantius). Ainsi, chez le fœtus ovin, 55 % du débit sanguin ombilical rejoint directement la veine cave via le canal d'Arantius tandis que le foie reçoit 45 % du sang maternel (Rudolph, 1985). Le poumon est lui aussi court-circuité via le canal artériel reliant le tronc pulmonaire à l'aorte, et via le foramen ovale reliant les ventricules cardiaques gauche et droit. Le sang sortant du cœur gauche perfuse les organes ou retourne à la circulation maternelle (Kiserud et coll., 2000). Le cœur et le cerveau fœtal sont favorisés dans la distribution du sang maternel. En effet, le cerveau jouit d'un système vasculaire très important et la barrière hémato-encéphalique est encore inactive (Loichot et coll., 2004).

Une autre particularité du fœtus est qu'il baigne dans le liquide amniotique. Celui-ci est composé en grande partie d'urines fœtales que le fœtus commence à excréter à partir de la fin du premier tiers de gestation. Le volume produit augmente au cours du temps pour atteindre 200 à 1200 mL par jour en fin de gestation chez la brebis (dont le poids du fœtus est proche de celui du fœtus humain). Chez cette espèce, le liquide amniotique est de plus éliminé par déglutition régulière du fœtus (entre 350 et 1000 mL par jour en fin de gestation) et par absorption transcutanée (entre 200 et 500 mL par jour). La quantité de liquide amniotique augmente petit à petit jusqu'au dernier quart de la gestation, puis diminue ensuite jusqu'à la mise-bas, ces mécanismes permettant une régulation du volume de celui-ci ([Gilbert, 2006](#)).

En général, le placenta ne joue un rôle de barrière que pour les molécules de haut poids moléculaire. Il présente des transporteurs en début de gestation mais ceux-ci disparaissent au cours de la grossesse pour laisser la place à un transport de type passif. Le passage transplacentaire peut être évalué à l'aide du modèle *ex vivo* du placenta perfusé ou par la mesure des concentrations plasmatiques maternelles au moment de l'accouchement et des concentrations fœtales évaluées à partir du sang de cordon ([Jacqz-Aigrain, 1999](#) ; [Loichot et coll., 2004](#)).

4.2. Le modèle du fœtus ovin

Le niveau de l'exposition interne fœtale au BPA résulte d'un grand nombre de facteurs dont :

- le passage transplacentaire qui dépend des propriétés physico-chimiques du BPA
- la liaison du BPA aux protéines du plasma maternel et fœtal. Seule la fraction libre du BPA peut franchir la barrière placentaire et l'importance de la liaison du BPA aux protéines plasmatiques détermine l'exposition à la forme libre et active du BPA
- le métabolisme du BPA par l'unité fœto-placentaire qui dépend de la maturité des systèmes enzymatiques métaboliques et d'une éventuelle bioactivation des métabolites du BPA au niveau des tissus fœtaux et/ou du placenta

- la possible recirculation du BPA entre le liquide amniotique et la circulation fœtale. Au cours de la gestation, les métabolites produits par le fœtus et qui sont éliminés par voie rénale peuvent s'accumuler dans le liquide amniotique en raison d'un défaut de transfert placentaire. L'ingestion du liquide amniotique pourrait donc accroître l'exposition du fœtus au BPA suite à la réactivation d'une fraction des métabolites par les tissus fœto-placentaires.

Ainsi, seul un modèle intégratif fondé sur des considérations physiologiques permet de prendre en compte ces différents facteurs simultanément. C'est la raison pour laquelle le laboratoire utilise le modèle *in vivo* du fœtus ovin instrumenté au cours d'une intervention chirurgicale à 3,5 mois d'âge gestationnel. En effet, ce modèle autorise la réalisation de perfusions et de prélèvements sanguins du côté fœtal et du côté maternel ainsi que des prélèvements de liquide amniotique ([Sato et coll., 1985](#) ; [Corbel et coll., 2013](#)).

Le modèle de la brebis gravide présente de plus l'avantage de la similitude avec le modèle humain en termes de poids des individus, nombre de fœtus et durée relativement longue de gestation comparativement aux autres espèces comme les rongeurs.

Chez les ovins, la placentation est de type syndesmochorial, tandis que chez l'homme, elle est de type hémochorial ([Wooding et coll., 2008](#)). Néanmoins, une étude révèle que malgré ces différences anatomiques, le transfert placentaire se montre équivalent chez l'homme et la brebis pour le transport de l'oxygène et des nutriments, d'autant que les érosions localisées de l'épithélium utérin ovin créent des lacunes sanguines au contact du trophoctoderme. Tout ceci fait donc du modèle ovin un modèle acceptable pour décrire les échanges mère-fœtus ([Barry et coll., 2008](#)).

4.3. Connaissances sur l'exposition fœtale au BPA

4.3.1. Données de biosurveillance de l'exposition fœtale au BPA

Des études ont rapporté des concentrations plasmatiques chez des femmes enceintes en BPA total très variables, comprises entre des valeurs indétectables et $66,48 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Lee et coll., 2008), et entre $0,5$ et $22,3 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Padmanabhan et coll., 2008).

Les données des concentrations en BPA total évaluées à partir du sang de cordon comme reflet de l'exposition fœtale ont mis en évidence des valeurs également élevées (respectivement entre $0,2$ et $9,2 \mu\text{g.L}^{-1}$ et entre des valeurs non détectables et $4,05 \mu\text{g.L}^{-1}$), bien que plus faibles que celles mesurées chez leur mère (Schönfelder et coll., 2002 ; Tan et coll., 2003).

Dans le liquide amniotique, chez la femme, des valeurs élevées de concentrations en BPA ont été rapportées entre 15 et 18 semaines de gestation ($8,3 \pm 8,9 \mu\text{g.L}^{-1}$). Ces valeurs diminueraient jusqu'à la fin de la gestation pour atteindre $1,1 \pm 1,0 \mu\text{g.L}^{-1}$. Les auteurs suggèrent que les valeurs élevées des concentrations de BPA seraient dues à une plus faible clairance métabolique du BPA en début de gestation (Ikezuki et coll., 2002).

4.3.2. Toxicocinétique fœtale du BPA

Des études menées *ex vivo* sur le modèle du placenta humain à terme perfusé ont montré que le BPA absorbé par la mère est capable de passer dans la circulation fœtale. Il traverse facilement le placenta par diffusion passive dans les deux sens (Corbel et coll., 2014). Cette même étude a démontré que le passage de BPAG à travers le placenta est très limité.

Deux études ont également été menées *in vivo*, chez le fœtus ovin (Corbel et coll., 2013) et chez le fœtus de singe (Patterson et coll., 2013). Ces études confirment que le BPA passe rapidement de la circulation maternelle à la circulation fœtale à travers le placenta. De plus, l'étude de Corbel et coll. (2013) a montré que lors d'une administration par voie IV de BPA à la brebis gravide, le fœtus reçoit 4,5 % de la dose administrée à sa mère. Rapportée à son poids, le fœtus reçoit ainsi une dose de BPA équivalente à celle administrée à sa mère.

Une fois dans la circulation fœtale, le BPA est métabolisé par le foie, principalement en BPAG comme décrit dans la partie 2.1., chez le rat (Doerge et coll., 2011), la brebis (Corbel et coll., 2013 ; Viguié et coll., 2013) et le singe (Patterson et coll., 2013). Du BPAS est aussi retrouvé dans la circulation fœtale ovine mais en quantité très inférieure à celle du BPAG (Corbel et coll., 2013). Une étude *ex vivo* a montré que le métabolisme du BPA pourrait être réversible chez le fœtus, l'hydrolyse du BPAG étant prépondérante dans les gonades fœtales (Corbel et coll., 2015).

Tandis que le BPA conjugué est éliminé de la circulation adulte par excrétion dans les urines, les urines fœtales sont éliminées dans le liquide amniotique qui baigne le fœtus. En outre, il a également été montré chez le fœtus ovin que le BPA peut facilement passer de la circulation fœtale à la circulation maternelle à travers le placenta. Ainsi, la clairance placentaire fœto-maternelle du BPA a été estimée à $12 \text{ L.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$, soit 94 % du débit sanguin ombilical. Ceci suggère donc que le placenta ne constitue en rien un frein à l'élimination du BPA dans le sens fœto-maternel. Ce résultat indique donc que la clairance du BPA est principalement placentaire et limite l'exposition fœtale au BPA (Corbel et coll., 2013).

Au contraire, le passage du BPAG à travers la barrière placentaire est très limité dans les 2 sens. Ainsi, même si la fraction de BPA administrée au fœtus qui est conjuguée est moins importante, les concentrations plasmatiques fœtales en BPAG sont élevées en raison du défaut de passage transplacentaire. Les clairances fœtales du BPAG et du BPAS, ainsi que les clairances fœtales de conjugaison du BPA n'ont jusque-là pas été évaluées.

Ces résultats soulèvent la question des mécanismes d'élimination du BPAG et en particulier du rôle de l'hydrolyse du BPAG dans la clairance fœtale de celui-ci et de son impact sur l'exposition fœtale au BPA.

La figure 11 résume les données connues concernant la toxicocinétique materno-fœtale du BPA et du BPAG.

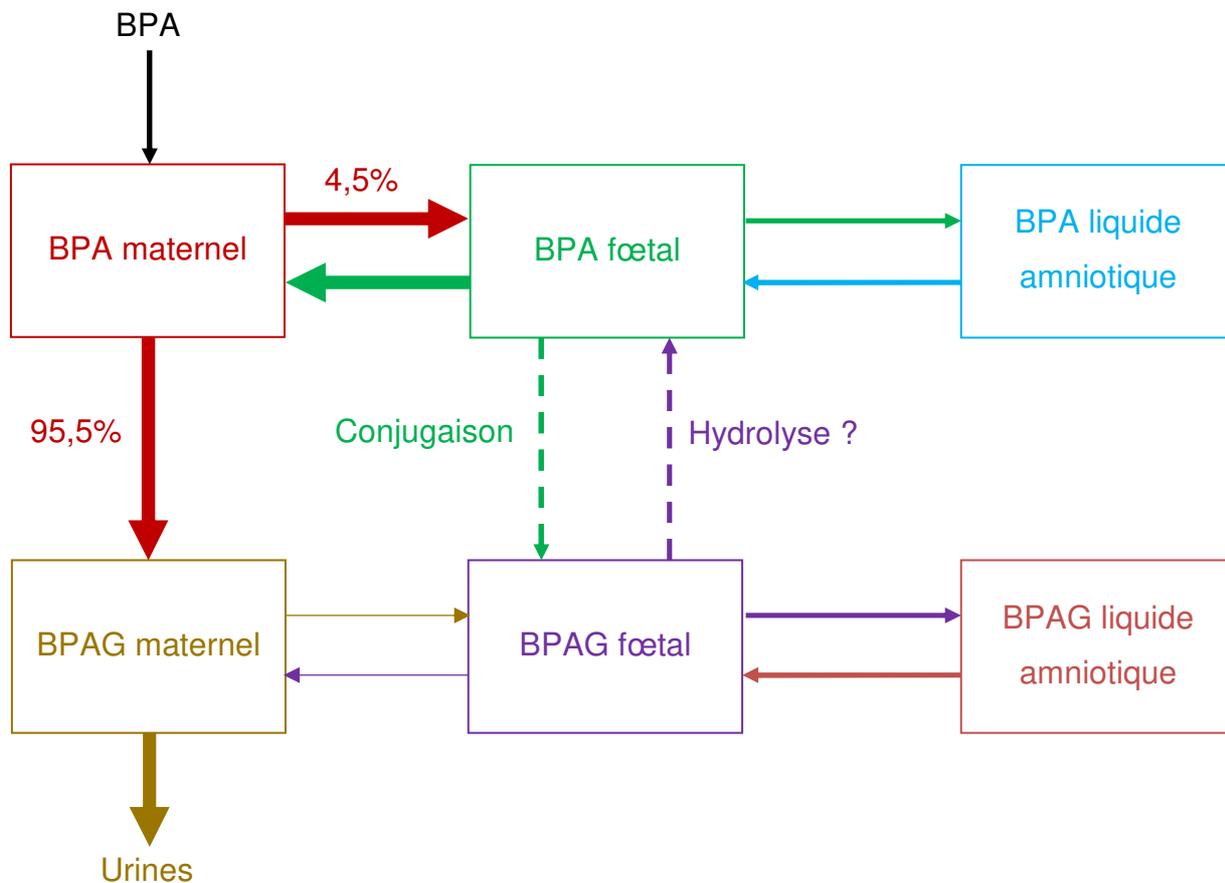


Figure 11 : Modèle toxicocinétique compartimental (6 compartiments) pour le BPA et le BPAG pour une brebis et son fœtus durant la seconde moitié de la gestation

Les échanges de BPA entre la mère et le fœtus s'effectuent à travers le placenta. Celui-ci joue alors le rôle de transporteur passif, conduisant au transfert au fœtus d'une dose équivalente à la dose biodisponible maternelle. Dans le compartiment fœtal, le BPA peut être métabolisé en BPAS, en particulier au début de la gestation, et en BPAG, prédominant à partir de la seconde moitié de la gestation. Les composés conjugués peuvent difficilement traverser le placenta, ils s'accumulent donc dans le compartiment fœtal. Ces métabolites pourraient être hydrolysés pour former à nouveau du BPA qui serait ensuite éliminé via la clairance placentaire fœto-maternelle.

5. Objectifs de l'étude

Les effets du BPA ont en particulier été décrits au cours de la vie prénatale : des études, notamment sur des modèles rongeur, ont en effet démontré que des fœtus exposés *in utero* à des doses inférieures à la DJA présenteraient des altérations de leur développement.

A l'heure actuelle, il existe très peu de données concernant l'exposition du fœtus au BPA alors que ces données sont nécessaires à l'évaluation du risque. Il est en particulier essentiel de déterminer si le niveau des concentrations plasmatiques fœtales en BPA est équivalent ou inférieur à celui associé à des effets délétères chez l'animal.

Une étude précédente a montré que le BPA, après passage de la barrière placentaire, est métabolisé principalement en BPAG et BPAS, et que ces composés, incapables de traverser la barrière placentaire, sont séquestrés dans le compartiment fœtal (Corbel et coll., 2013). Cependant, ces composés étant dépourvus d'activité œstrogénique (partie 2.1), ils ne sont pas pris en compte dans les études toxicologiques concernant le BPA.

Pourtant, une étude récente a montré que le BPAG peut être réactivé par hydrolyse en BPA libre, dans les gonades fœtales (Corbel et coll., 2015). Cependant, cette étude ayant été menée sur un modèle *ex vivo*, ces résultats ne peuvent pas être directement extrapolés aux conditions *in vivo* qui intègrent l'ensemble des processus de distribution et d'élimination du BPA et du BPAG. C'est la raison pour laquelle, nous avons utilisé le modèle du fœtus ovin pour évaluer *in vivo* l'implication du processus d'hydrolyse du BPAG dans les mécanismes de clairance fœtale du BPAG et son impact sur l'exposition fœtale au BPA.

L'objectif de cette étude était donc d'évaluer les contributions relatives des clairances métaboliques et placentaires fœtales dans l'élimination du BPA et du BPAG.

Étude expérimentale

1. Matériel et méthode

1.1. Matériel de prélèvement et de préparation

Tout le matériel utilisé dans cette étude était soit en verre, soit en polypropylène (plastique sans BPA).

1.2. Produits chimiques

1.2.1. Bisphénol A

Le BPA utilisé était sous forme de poudre blanche et a été fourni par Sigma-Aldrich (Saint-Quentin-Fallavier (33), France). Sa pureté était supérieure à 99 %.

Pour les administrations IV, le BPA a été mis en solution dans un mélange éthanol/propylène-glycol (1 : 49) afin d'obtenir une concentration de 50 mg.mL⁻¹.

La préparation des solutions de BPA a été réalisée au cours de l'heure précédant les administrations dans une salle dédiée à cet effet, et a été effectuée de manière stérile, sous la hotte, en utilisant uniquement du matériel jetable.

1.2.2. Bisphénol A glucuronide

Le BPAG utilisé dans la première expérience a été purifié (75-86 %) selon la méthode décrite par M. Lacroix ([Lacroix et coll., 2011](#)) et contenait moins de 0,2 % de BPA.

Du BPAG synthétique a été utilisé dans la seconde expérience. Il a été obtenu auprès de Toronto Research Chemicals (North York (M3J), Canada). Sa pureté était de 98 %.

Une solution de BPAG injectable en IV a été obtenue en mettant en solution le BPAG dans du chlorure de sodium (NaCl) 0,9 %, afin d'obtenir une concentration de 42,6 mg.mL⁻¹.

1.3. Animaux

Cette étude a fait l'objet d'un agrément du Ministère de l'Agriculture, portant le numéro 31-115545.

Deux expériences ont été menées, la première sur 8 brebis gravides de race Lacaune, pesant 60 ± 10 kg, la seconde sur 2 autres brebis gravides Lacaune, de 67 ± 4 kg. Les brebis ont été logées collectivement puis en box individuel après la chirurgie, sur de la paille renouvelée quotidiennement. L'alimentation était composée d'une ration d'aliment concentré distribuée deux fois par jour, et de fourrage à volonté. De l'eau a été distribuée à volonté.

Un fœtus ovin par brebis, à un stade compris entre 107 et 118 jours, a été instrumenté au cours d'une intervention chirurgicale avec deux cathéters mis à demeure dans la veine jugulaire et dans l'artère carotidienne pour permettre respectivement la réalisation d'administrations IV et de prélèvements de sang. Un cathéter a également été placé dans la cavité amniotique selon la méthode décrite par [Corbel et coll., 2013](#).

Les doses de BPA et de BPAG à administrer aux fœtus ont été ajustées à un poids du fœtus estimé à 2,5 kg ([Bazer et coll., 2012](#)). À l'issue des césariennes, les fœtus ont été pesés afin de calculer les doses exprimées par kg de poids vif du fœtus.

1.4. Plan expérimental

L'étude a comporté deux expériences.

1.4.1. Expérience 1

La première expérience a eu pour objectif d'évaluer les clairances fœtales du BPA et de son principal métabolite.

L'étude expérimentale comportait deux périodes séparées d'au moins 14 jours.

Au cours de la première période, les fœtus ont reçu une administration IV de BPA sous forme de bolus à la dose de 5 mg.kg^{-1} (soit $21,9 \text{ } \mu\text{mol.kg}^{-1}$) suivie trois jours plus tard de l'administration IV d'une dose molaire équivalente de BPAG (soit $8,86 \text{ mg.kg}^{-1}$).

Des prélèvements de sang maternel et fœtal et de liquide amniotique ont été réalisés avant chaque administration et aux temps 7 minutes, 15 min, 30 min, 1 heure, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, 24 h, 34 h, 48 h, 58 h et 72 h après les administrations de BPA (prélèvements 1^{ère} série) et de BPAG (prélèvements 2^{ème} série).

La totalité des urines maternelles a été collectée au cours des 35 h suivant chacune des administrations, soit aux temps 0, 2 heures, 6 h, 11 h, 16 h, 21 h, 26 h, 31 h et 35 h post-administration.

Soixante-douze heures après l'administration fœtale de BPAG, les fœtus ont été extraits par césarienne et pesés (figure 12).

Au cours de la deuxième période, les paramètres pharmacocinétiques maternels du BPA et du BPAG ont été évalués chez les brebis au moins 14 jours après la césarienne. Les mesures ont été réalisées chez les brebis non gravides, une étude récente ayant montré que la gestation ne modifie pas la pharmacocinétique du BPA ([Corbel et coll., 2013](#)). Au cours de cette période, les brebis ont reçu une administration IV de BPA sous forme de bolus à la dose de 5 mg.kg^{-1} ($21,9 \text{ } \mu\text{mol.kg}^{-1}$, soit la même dose que celle administrée au fœtus) suivie trois jours plus tard d'une administration de BPAG à la dose de $3,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ (soit $8,76 \text{ } \mu\text{mol.kg}^{-1}$). Les doses administrées ont été ajustées au poids des brebis évalué la veille de la première administration.

Des prélèvements de sang maternel ont été réalisés avant chaque administration et aux temps 4 minutes, 8 min, 15 min, 30 min, 1 heure, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, 24 h, 34 h, 48 h et 72 h après chaque administration. La totalité des urines a été collectée au cours des 35 h suivant chacune des administrations, soit aux temps 2 heures, 6 h, 11 h, 16 h, 21 h, 26 h, 31 h et 35 h post-administration.

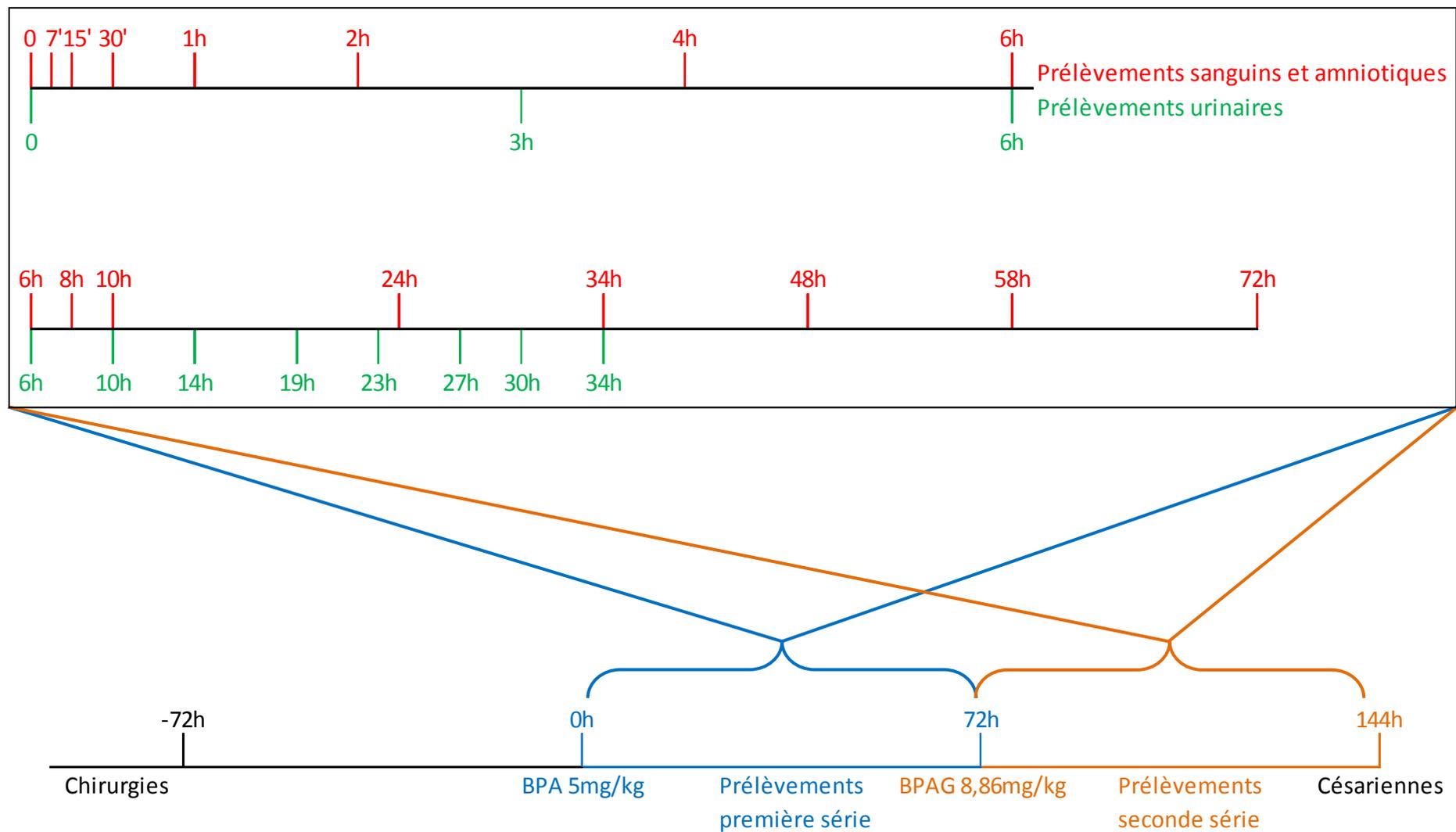


Figure 12 : Plan expérimental de la première période de l'expérience 1

1.4.2. Expérience 2

L'objectif de cette seconde expérience était de s'assurer que les concentrations plasmatiques fœtales en BPA obtenues après administration de BPAG, proches de la limite de quantification (LOQ) du dosage de BPA (1 ng.mL^{-1}) étaient bien le reflet de l'hydrolyse du BPAG.

Pour cela, nous avons réalisé cinq administrations répétées, séparées chacune de six heures, d'une dose de BPAG de 10 mg.kg^{-1} , soit $24,8 \text{ } \mu\text{mol.kg}^{-1}$, à deux fœtus de façon à augmenter par palier l'exposition du fœtus au BPAG, et, si l'hypothèse de l'hydrolyse est vérifiée, de façon à obtenir des concentrations plasmatiques en BPA quantifiables et croissantes au cours des administrations.

De plus, l'utilisation de BPAG synthétique (donc ne contenant pas de BPAS) a permis d'évaluer les concentrations de BPAS issu de la sulfoconjugaison du BPA libéré par hydrolyse du BPAG.

L'expérience a commencé au minimum 72 heures après la dernière chirurgie. Les fœtus instrumentés ont reçu via le cathéter jugulaire un bolus IV de BPAG à la dose de 10 mg.kg^{-1} . Cette administration a été répétée 4 fois toutes les 6 heures. Des prélèvements de sang fœtal et maternel ainsi que de liquide amniotique ont été réalisés avant la première administration de BPAG et aux temps 15 minutes, 30 min, 1 heure, 2 h, 4 h, 6 h après celle-ci, puis aux temps 10 minutes, 30 min, 1 heure, 3 h, et 6 h après chacune des 4 administrations suivantes et enfin aux temps 10 heures, 26 h, 29 h, 33 h, 48 h, 52 h, 54 h après la dernière administration.

La totalité des urines a été prélevée aux temps 3 heures, 6 h, 10 h, 14 h, 19 h, 23 h, 27 h, 30 h et 34 h après la première administration (figure 13).

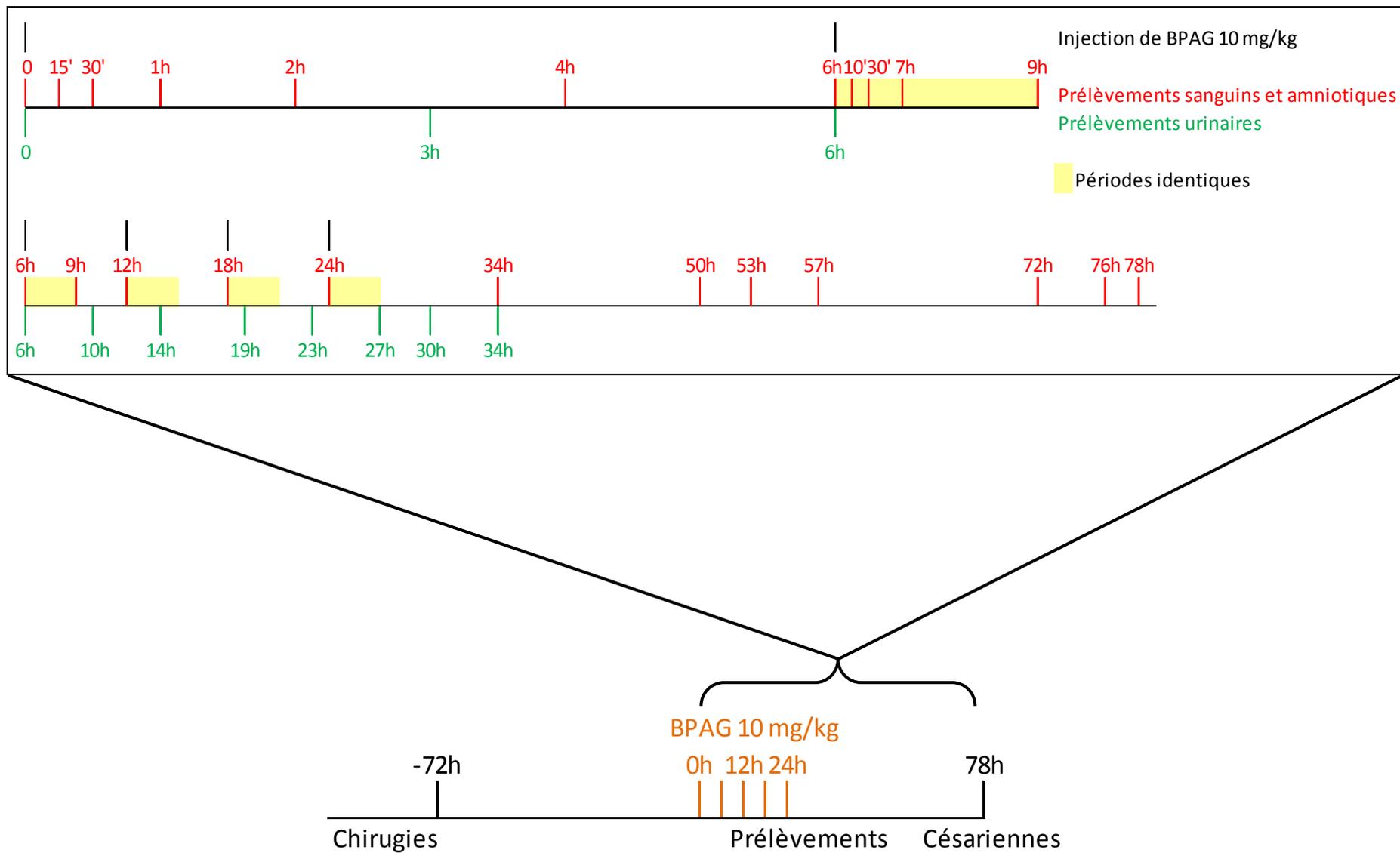


Figure 13 : Plan expérimental de l'expérience 2

1.5. Administrations, collecte et traitement des échantillons

Les administrations IV fœtales ont été réalisées directement via le cathéter mis en place dans la veine jugulaire du fœtus. Les administrations IV maternelles ont été faites via un cathéter mis en place dans la veine jugulaire gauche des brebis juste avant l'administration puis retiré après celle-ci. Le sang fœtal a été recueilli dans des tubes en polypropylène de 1,5 mL héparinés avec 10 UI (unité internationale) (Héparine Choay[®], Sanofi Winthrop industrie (Ambarès (33), France)).

Les prélèvements sanguins fœtaux d'un volume de 0,5 mL ont été réalisés via le cathéter mis à demeure dans l'artère carotidienne du fœtus.

Les prélèvements sanguins maternels (5 mL) ont été réalisés par ponction directe de la jugulaire droite. Le sang maternel a été recueilli dans des tubes en polypropylène héparinés de 5 mL.

Une sonde de Foley (charrière 12) a été mise en place juste avant le début des administrations pour permettre le prélèvement de la totalité du contenu de la vessie à un intervalle de temps régulier. Le volume d'urine prélevé à chaque temps a été mesuré à l'aide d'une éprouvette en verre de 100 mL et enregistré.

Les prélèvements de liquide amniotique ont été réalisés via le cathéter mis en place dans le sac amniotique. L'urine et le liquide amniotique ont été recueillis dans des tubes en polypropylène.

Les échantillons de liquide amniotique, d'urine et de sang ont été conservés dans la glace entre le moment du prélèvement et la centrifugation réalisée au cours de l'heure suivant celui-ci. Les échantillons ont été centrifugés à 3000 g pendant 20 minutes à 4°C. Deux fractions aliquotes de plasma, urine et liquide amniotique ont été conservées à -20°C.

1.6. Dosage du BPA, BPAG et BPAS

Les concentrations plasmatiques, urinaires et amniotiques en BPA, BPAG et BPAS ont été mesurées simultanément par chromatographie liquide d'ultra haute performance couplée à de la spectrométrie de masse à triple quadripôle ([Lacroix et coll., 2011](#)).

Ainsi, 100 μL de chaque prélèvement ont été dilués dans 150 μL d'acétonitrile, permettant la précipitation des protéines, et 50 μL de standard interne (BPA-D16 et BPAG marqué au carbone 13 (BPAG-13C12)). Après centrifugation (10 minutes à 20 000 g), 5 μL de surnageant ont été prélevés et injectés dans la chaîne de mesure.

Les LOQ ont été validées pour 1 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ pour le BPA (0,0043 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) et 5 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ pour le BPAG (0,012 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) et le BPAS (0,016 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$).

1.7. Analyse toxicocinétique

Toutes les concentrations massiques de BPA, BPAG et BPAS ont été converties en concentrations molaires.

Les doses et paramètres toxicocinétiques ont été rapportés au poids exact du fœtus, évalué après la césarienne.

La quantité de BPAG excrétée dans les urines a été calculée en multipliant la concentration en BPAG urinaire obtenue dans l'échantillon par la quantité d'urine produite mesurée au cours de chaque période expérimentale.

Des analyses compartimentales et non compartimentales des données des concentrations plasmatiques de BPA et BPAG ont été réalisées à l'aide du logiciel Phoenix[®] NLME[™] (version 6.4).

1.7.1. Calcul des paramètres toxicocinétiques

Les clairances, temps moyen de résidence, volumes de distribution et temps de demi-vie ont été calculés selon les équations classiques de toxicocinétique ([Gibaldi et coll., 1982](#)).

1.7.1.1. Clairance

La clairance plasmatique est le paramètre toxicocinétique qui décrit la capacité d'élimination d'une molécule par un organisme.

Elle est déterminée après administration IV d'une molécule suivie de mesures de sa concentration plasmatique. Elle est ensuite calculée selon l'équation :

$$Cl = \frac{Dose}{AUC}$$

où la *Dose* est la quantité administrée en gramme et l' *AUC* l'aire sous la courbe des concentrations plasmatiques mesurées au cours du temps en g.h.L⁻¹.

L'AUC est calculée selon la méthode mathématique des trapèzes linéaires.

La clairance est ainsi obtenue en L.h⁻¹ et peut être corrigée par le poids de l'individu. Elle est alors exprimée en L.h⁻¹.kg⁻¹.

1.7.1.2. Degré d'augmentation de l'exposition

Le degré d'augmentation de l'exposition (EE) correspond au niveau d'augmentation de l'exposition à une substance présentant un métabolisme réversible, comparé à l'exposition hypothétique de ce même organisme à cette substance si elle ne présentait pas ce métabolisme (Cheng et coll., 1993).

Le degré d'augmentation de l'exposition au BPA a été calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$EE = 1 + \frac{Cl_{gBPA} \times Cl_{hBPAG}}{Cl_{fBPA} \times Cl_{fBPAG} - Cl_{gBPA} \times Cl_{hBPAG}}$$

Avec les clairances définies dans la figure 14 :

- Cl_{fBPA} : Clairance fœtale du BPA
- Cl_{tBPA} : Clairance de transfert du BPA du fœtus à sa mère
- Cl_{gBPA} : Clairance de glucuroconjugaison du BPA dans le compartiment fœtal
- Cl_{fBPAG} : Clairance fœtale du BPAG
- Cl_{hBPAG} : Clairance d'hydrolyse du BPAG dans le compartiment fœtal

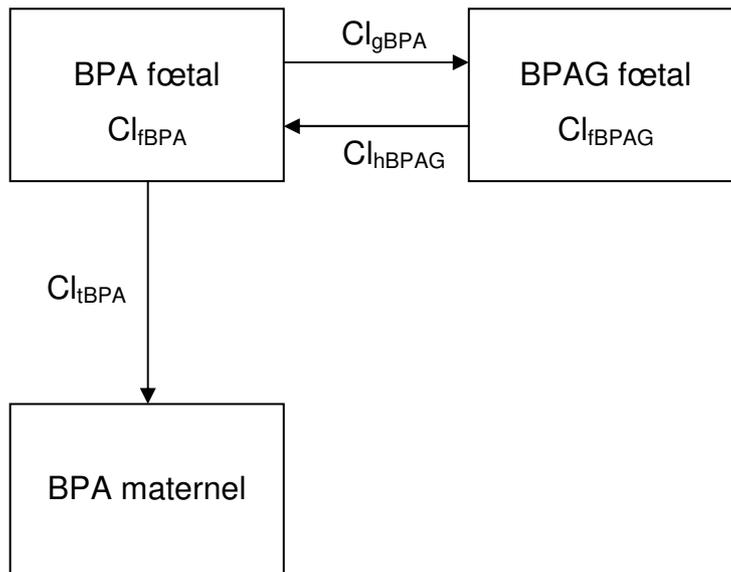


Figure 14 : Système toxicocinétique permettant de calculer le degré d'augmentation de l'exposition au BPA

1.7.1.3. Temps moyen de résidence

Le temps moyen de résidence (MRT) d'une molécule dans un organisme correspond à la durée moyenne de séjour de cette molécule dans l'organisme, soit le temps moyen entre son absorption et sa métabolisation ou élimination.

Il est obtenu selon la formule :

$$MRT = \frac{AUMC}{AUC}$$

où l' *AUMC* est le moment d'ordre 1 de la courbe des concentrations plasmatiques en fonction du temps ($C(t)$), c'est-à-dire :

$$AUMC = \int_0^{\infty} t \cdot C(t) dt$$

Cette intégrale est estimée selon la même méthode des trapèzes que celle utilisée pour approximer l'AUC.

Le temps moyen de résidence est exprimé en heure.

1.7.1.4. *Volume de distribution*

Le volume de distribution apparent à l'état de pseudo-équilibre (V_{ss}) est calculé à partir de la clairance et du temps moyen de résidence, selon l'équation :

$$V_{ss} = Cl \times MRT$$

Le volume de distribution est ainsi obtenu en L et peut aussi être rapporté au poids de l'individu en $L.kg^{-1}$.

1.7.1.5. *Temps de demi-vie*

Le temps de demi-vie ($T_{1/2}$) d'une molécule correspond au temps nécessaire pour que les concentrations plasmatiques soient divisées de moitié après avoir atteint l'état de pseudo-équilibre, c'est-à-dire lorsque la pente finale du décours temporel des concentrations plasmatiques est observée.

Il est calculé à partir de la clairance et du volume de distribution, selon l'équation :

$$T_{1/2} = \frac{\ln 2 \times V_{ss}}{Cl}$$

Le temps de demi-vie est ainsi exprimé en heure.

1.7.1.6. *Coefficient d'accumulation*

Le coefficient d'accumulation (R) décrit dans un système d'administrations répétées à intervalles réguliers l'accumulation d'une substance dans un organisme.

Il a été calculé entre la première administration et l'administration N selon la formule suivante ([Cheng et coll., 1993](#)) :

$$R = \frac{AUC_N}{AUC_1}$$

où AUC_1 est l'aire sous la courbe des concentrations plasmatiques mesurées au cours du temps entre la première et la seconde administration et où AUC_N est l'aire sous la courbe des concentrations plasmatiques mesurées au cours du temps entre l'administration N-1 et l'administration N.

1.7.2. Estimation du métabolisme fœtal et des échanges mère/fœtus

Pour chaque fœtus (ou brebis), l'importance de la glucuroconjugaison du BPA au cours de la période de prélèvement a été estimée en multipliant l'AUC du BPAG obtenue après l'administration IV de BPA au fœtus (brebis) (AUC_{BPAG}) par la clairance correspondante fœtale (adulte) du BPAG (Cl_{BPAG}) :

$$\text{quantité glucuroconjuguée} = AUC_{BPAG} \times Cl_{BPAG}$$

De la même façon, l'importance de l'hydrolyse du BPAG a été estimée en multipliant l'AUC de BPA obtenue après administration de BPAG (AUC_{BPA}) par la clairance correspondante de BPA (Cl_{BPA}) :

$$\text{quantité hydrolysée} = AUC_{BPA} \times Cl_{BPA}$$

Étant donné que nous avons observé que la totalité du BPA entrant dans la circulation sanguine maternelle subit une glucuroconjugaison, le transfert de BPA du fœtus à la mère a été estimé en multipliant la valeur de l'AUC du BPAG maternel obtenues après administration fœtale de BPA (AUC_{mBPAG}) par la clairance du BPAG de la brebis (Cl_{mBPAG}).

$$\text{quantité de BPA quittant la circulation fœtale} = AUC_{mBPAG} \times Cl_{mBPAG}$$

De la même façon, le transfert du BPAG a été estimé en multipliant la valeur de l'AUC de BPAG maternel obtenue après l'administration IV fœtale de BPAG par la clairance du BPAG de la brebis.

$$\text{quantité de BPAG quittant la circulation fœtale} = AUC_{mBPAG} \times Cl_{mBPAG}$$

1.8. Simulation des concentrations plasmatiques maternelles et fœtales de BPA et de BPAG

A partir des paramètres toxicocinétiques calculés au cours de la première expérience, les profils des concentrations plasmatiques fœtales et maternelles en BPA et BPAG ont été ajustés à un modèle toxicocinétique simplifié à 4 compartiments à l'aide du logiciel Phoenix[®]. Ce modèle a permis de simuler les concentrations plasmatiques maternelles et fœtales associées à des administrations maternelles IV répétées de BPA à la dose $1 \mu\text{g.kg}^{-1}$ et séparées de 6 heures. Dans cette simulation, on a considéré un couple brebis-fœtus pesant respectivement 75 kg et 2 kg. Le transfert de BPA de la mère au fœtus a été estimé à 4,5 % (Corbel et coll., 2013).

2. Résultats

Les concentrations de BPA, BPAG et BPAS évaluées lors du prélèvement de contrôle avant administration de BPA ont été systématiquement inférieures à la LOQ.

Pour les dosages urinaires, seules les concentrations de BPAG sont rapportées, les concentrations de BPA représentant moins de 1 % de la somme des concentrations de BPA total (BPA, BPAS et BPAG).

Les dosages dans le liquide amniotique n'ont pu être réalisés que dans la seconde expérience.

Tous les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écart-type.

2.1. Expérience 1

Les fœtus (4 mâles et 4 femelles) pesaient $2,04 \pm 0,38$ kg. La dose moyenne de BPA et de BPAG administrée aux fœtus a donc été de $28,3 \mu\text{mol.kg}^{-1}$.

2.1.1. Administrations fœtales de BPA et de BPAG

Les figures 15 et 16 représentent l'évolution au cours du temps des concentrations plasmatiques moyennes de BPA, BPAG et BPAS chez respectivement 8 fœtus et leurs mères après administration de BPA et de BPAG aux fœtus (dose nominale de $21,9 \mu\text{mol.kg}^{-1}$ pour un fœtus de 2,5 kg). La figure 17 représente l'évolution au cours du temps des concentrations urinaires moyennes chez les mères en BPAG après ces mêmes administrations fœtales. Le BPAS n'a pas été évalué après l'administration de BPAG. Pour les concentrations plasmatiques, les moyennes ont été calculées lorsque les concentrations plasmatiques étaient supérieures à la LOQ chez au moins 50 % des individus.

2.1.1.1. Données fœtales

Après administration fœtale de BPA, la concentration plasmatique fœtale de celui-ci a diminué rapidement pour atteindre une valeur inférieure à la LOQ, 2 heures après l'administration. C'est à ce moment que la concentration de BPAG a été maximale avant de diminuer très lentement jusqu'à la fin de la période de prélèvements. La courbe des concentrations de BPAS présente une forme similaire à celle de BPAG mais avec un rapport de concentrations de 10 environ.

Soixante-douze heures après l'administration de BPA, la concentration résiduelle de BPAG représentait environ 4 % de la valeur du pic de concentration obtenu après l'administration de BPAG et a été considérée comme négligeable.

Après administration fœtale de BPAG, la concentration plasmatique fœtale de BPAG a diminué lentement et était toujours mesurable 72 heures après l'administration. Du BPA a été détecté dans le plasma de 7 des 8 fœtus. Chez ces individus, la concentration plasmatique de BPA est restée relativement constante et a fluctué autour de la LOQ (figure 15).

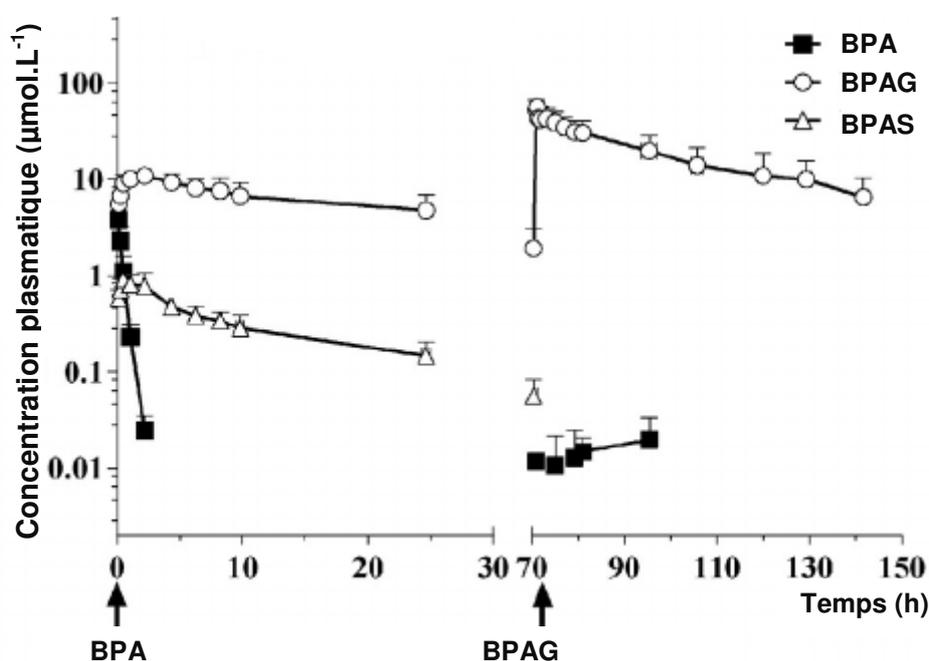


Figure 15 : Évolution temporelle des concentrations plasmatiques fœtales moyennes (± écart-type) de BPA, BPAG et BPAS après administration fœtale IV de BPA puis de BPAG (21,9 µmol.kg⁻¹)

2.1.1.2. Données maternelles

Dans le plasma maternel, la concentration de BPA, qui a atteint une valeur maximale au premier prélèvement (7 minutes post-administration), a diminué rapidement de la même façon que chez le fœtus. Les concentrations de BPAG et de BPAS ont atteint quant à elles leur valeur maximale 15 minutes après l'administration de BPA.

Ensuite, la concentration de BPAG a présenté deux phases de décroissance, une phase de décroissance rapide suivie d'une phase plus lente pour atteindre une valeur inférieure à la LOQ au bout de 24 heures. La concentration plasmatique en BPAS a diminué rapidement pour atteindre des valeurs inférieures à la LOQ, 2 heures après l'administration.

Après administration fœtale de BPAG, la concentration plasmatique de la mère de BPAG a fluctué autour de valeurs proches de la LOQ. Le BPA n'a pas été détecté dans le plasma maternel (figure 16).

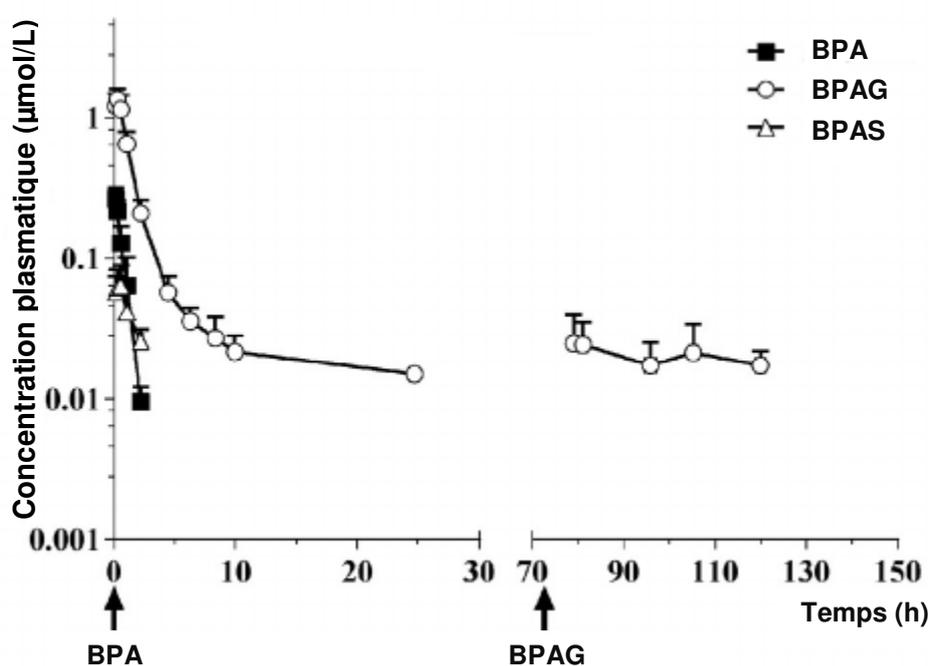


Figure 16 : Évolution temporelle des concentrations plasmatiques moyennes (\pm écart-type) de BPA, BPAG et BPAS chez les mères après administration fœtale IV de BPA puis de BPAG ($21,9 \mu\text{mol.kg}^{-1}$)

En moyenne, 35 ± 15 % de la dose de BPA administrée au fœtus a été récupérée dans les urines maternelles au cours des 34 heures suivant l'administration de BPA, dont 69 ± 13 % au premier prélèvement, soit dans les 3 heures après l'administration.

Seulement $5,0 \pm 2,0$ % de la dose de BPAG administrée au fœtus a été retrouvé dans les urines maternelles sur 34 heures. Cette faible quantité excrétée a été relativement constante tout au long de la série de prélèvements (figure 17).

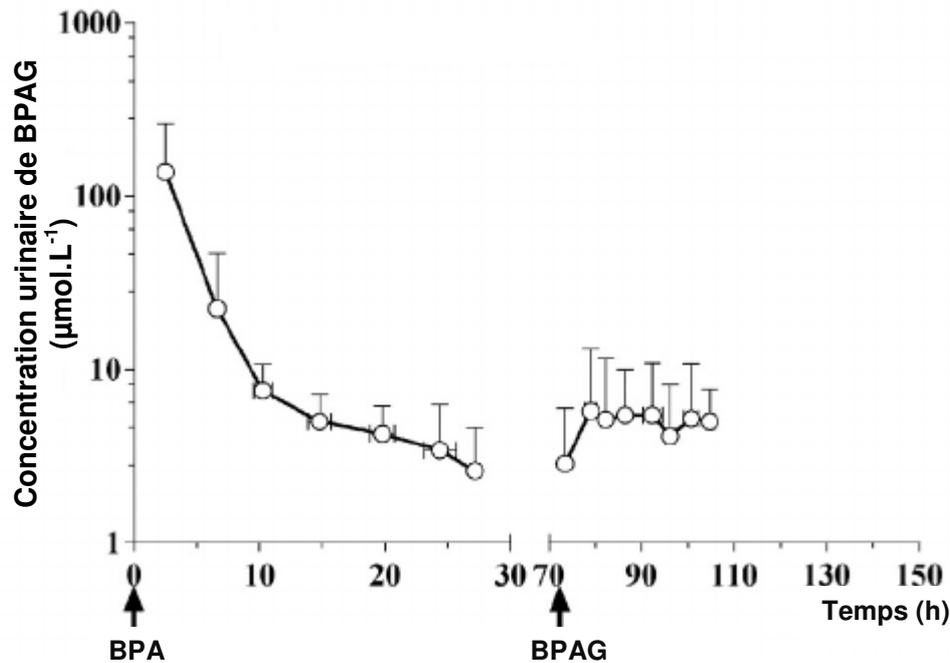


Figure 17 : Évolution temporelle de la concentration urinaire maternelle moyenne (\pm écart-type) de BPAG après administration fœtale IV de BPA puis de BPAG ($21,9 \mu\text{mol.kg}^{-1}$)

2.1.2. Administrations aux brebis adultes de BPA et de BPAG

La figure 18 représente l'évolution des concentrations plasmatiques moyennes de BPA, BPAG et BPAS au cours du temps chez 7 brebis adultes après administration de BPA (dose nominale de $21,9 \mu\text{mol.kg}^{-1}$ pour un fœtus de 2,5 kg) et de BPAG ($8,76 \mu\text{mol.kg}^{-1}$ pour un fœtus de 2,5 kg). Le BPAS n'a pas été mesuré après administration de BPAG. Les concentrations plasmatiques moyennes ont été calculées lorsque les concentrations étaient supérieures à la LOQ chez au moins 50 % des individus. La figure 19 représente l'évolution de la concentration urinaire moyenne de BPAG au cours du temps chez ces mêmes brebis après les administrations de BPA et de BPAG.

Après administration de BPA aux brebis adultes, la concentration plasmatique de BPA a diminué rapidement pour atteindre une valeur inférieure à la LOQ 10 heures après administration. Les concentrations plasmatiques de BPAS et de BPAG ont atteint quant à elles leur valeur maximum 15 minutes après l'administration de BPA puis ont diminué lentement pour devenir inférieures à la LOQ respectivement au bout de 10 et 24 heures.

Après administration de BPAG, la concentration plasmatique de BPAG a diminué rapidement et a atteint une valeur inférieure à la LOQ au bout de 8 heures. Le BPA n'a pas été détecté dans le plasma maternel après l'administration de BPAG (figure 18).

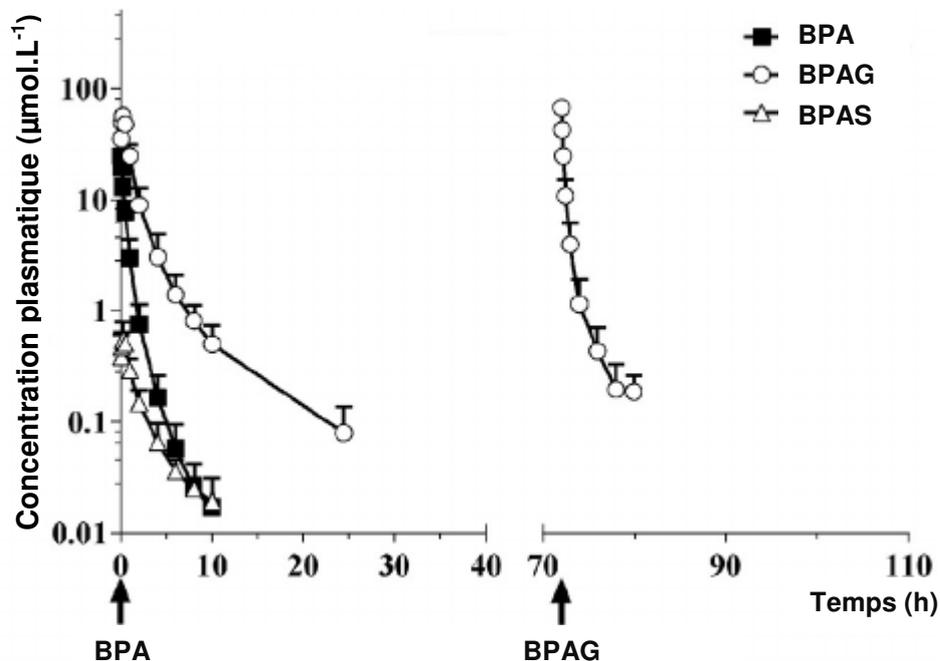


Figure 18 : Évolution temporelle des concentrations plasmatiques moyennes (± écart-type) de BPA, BPAG et BPAS chez les brebis adultes après administration IV de BPA ($21,9 \mu\text{mol.kg}^{-1}$) puis de BPAG ($8,76 \mu\text{mol.kg}^{-1}$) aux brebis

En moyenne, $59 \pm 14 \%$ de la dose de BPA administrée a été collectée dans les urines au cours des 34 heures suivant l'administration. La majeure partie, $77 \pm 8 \%$, a été retrouvée dans le premier prélèvement, soit dans les 3 heures après l'administration.

Après administration de BPAG, $65 \pm 39 \%$ de la dose a été retrouvée dans les urines, au cours des 34 heures suivantes, dont $77 \pm 19 \%$ au cours des 3 premières heures (figure 19).

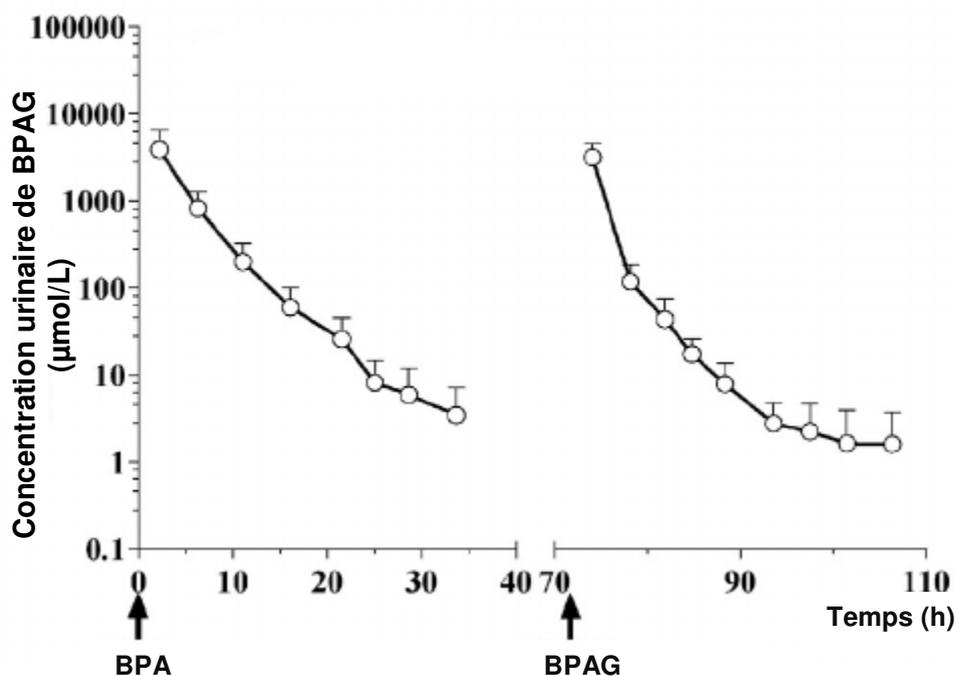


Figure 19 : Évolution temporelle de la concentration urinaire moyenne (\pm écart-type) de BPAG après administration IV de BPA ($21,9 \mu\text{mol.kg}^{-1}$) puis de BPAG ($8,76 \mu\text{mol.kg}^{-1}$) aux brebis adultes

2.1.3. Évaluation des paramètres toxicocinétiques

Le tableau 3 donne les valeurs moyennes des paramètres toxicocinétiques du BPA et du BPAG chez les fœtus et les adultes.

Tableau 3 : Paramètres toxicocinétiques moyens du BPA et du BPAG chez les fœtus ovins et les brebis adultes déterminés après administration IV de BPA ($21,9 \mu\text{mol.kg}^{-1}$) et de BPAG (fœtus : $21,9 \mu\text{mol.kg}^{-1}$; adultes : $8,76 \mu\text{mol.kg}^{-1}$)

Paramètres pharmacocinétiques	BPA		BPAG	
	Fœtus (n=8)	Adultes (n=8)	Fœtus (n=8)	Adultes (n=7)
Cl ($\text{L.h}^{-1}.\text{kg}^{-1}$)	$14,8 \pm 4,07$	$1,7 \pm 0,38$	$0,020 \pm 0,013$	$0,33 \pm 0,076$
Vss (L.kg^{-1})	$5,1 \pm 1,4$	$1,3 \pm 0,30$	$0,70 \pm 0,22$	$0,32 \pm 0,096$
MRT (h)	$0,34 \pm 0,026$	$0,75 \pm 0,15$	$39,3 \pm 10,9$	$0,84 \pm 0,54$
T _{1/2} (h)	$0,31 \pm 0,030$	$1,6 \pm 0,46$	$28 \pm 6,4$	$3,2 \pm 1,8$

Chez le fœtus, la clairance et le volume de distribution ont été plus élevés pour le BPA que pour le BPAG (respectivement 740 et 7 fois). Le temps moyen de résidence et le temps de demi-vie ont été au contraire plus élevés pour le BPAG que pour le BPA (respectivement 116 et 90 fois).

Chez l'adulte, la clairance et le volume de distribution ont été plus élevés (respectivement 5 et 4 fois) pour le BPA que pour le BPAG. Au contraire, le temps de demi-vie du BPAG a été environ 2 fois plus élevé que celui du BPA. Néanmoins, les temps moyens de résidence du BPA et du BPAG n'ont pas différé.

La fraction moyenne estimée de BPA métabolisée en BPAG a été de $106 \pm 14 \%$.

Ainsi, si l'on suppose que le BPA entrant dans la circulation maternelle est totalement glucuronoconjugué par la mère, le pourcentage de BPA transféré du fœtus à la mère a été estimé à $67 \pm 16 \%$. Ce pourcentage est du même ordre que celui du BPA administré au fœtus retrouvé dans les urines de la mère (après correction par le pourcentage de BPAG retrouvé dans les urines après administration maternelle de BPA), soit 59 %. Enfin, le pourcentage de BPA administré au fœtus qui a été glucuronoconjugué a été estimé à $19 \pm 4 \%$ au cours de la période de prélèvement, et à $24 \pm 3 \%$ à partir de la courbe extrapolée à l'infini.

2.2. Expérience 2

Les fœtus pesaient 2,80 et 2,84 kg et étaient de sexe mâle.

Les figures 20, 21, 22 et 23 représentent l'évolution des concentrations moyennes de BPA, BPAG et BPAS au cours du temps chez 2 fœtus et leur mère après administrations IV fœtales répétées de BPAG (5 administrations IV, $24,8 \mu\text{mol.kg}^{-1}$, 6 heures d'intervalle) respectivement dans le plasma fœtal, dans le liquide amniotique, dans le plasma maternel et dans les urines maternelles.

2.2.1. Données fœtales

Le profil temporel des concentrations plasmatiques fœtales de BPAG a présenté une succession de pics et de vallées, chaque pic correspondant à une administration de BPAG. De plus, on remarque que chaque pic de BPAG a été associé à une augmentation des concentrations plasmatiques de BPA et BPAS.

Après la dernière administration, la concentration plasmatique fœtale de BPAG a diminué lentement, tandis que celles de BPA et BPAS ont diminué après la dernière administration puis ont stagné. Des temps de demi-vie d'élimination plasmatique de 115 ± 16 heures pour le BPA, de 83 ± 11 h pour le BPAG et de 77 ± 21 h pour le BPAS ont été mesurés (figure 20).

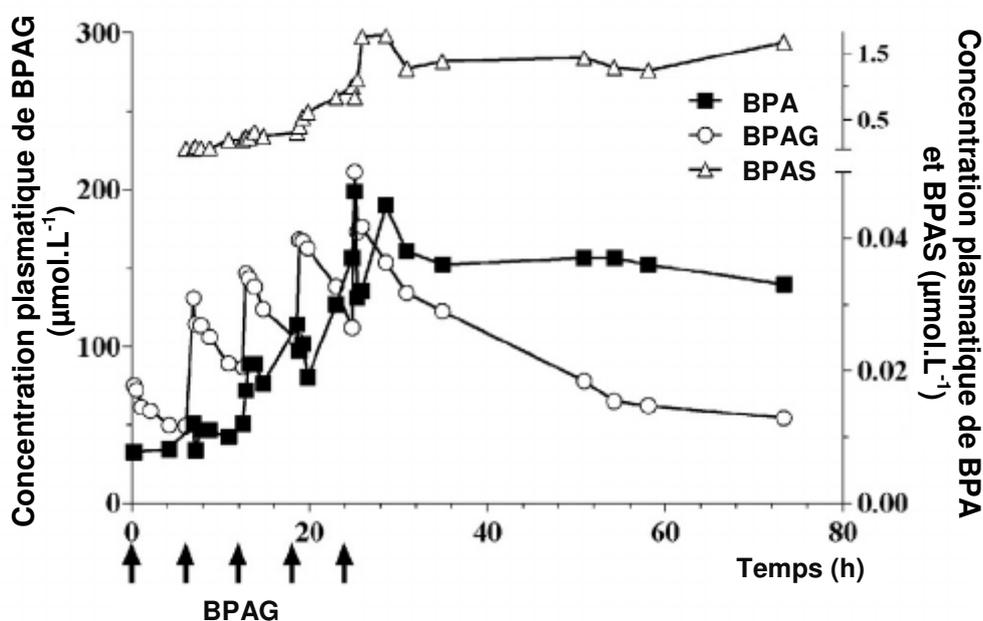


Figure 20 : Évolution temporelle des concentrations plasmatiques fœtales moyennes de BPA, BPAG et BPAS après 5 administrations IV fœtales répétées de BPAG ($24,8 \mu\text{mol.kg}^{-1}$, 6 heures d'intervalle)

Dans le liquide amniotique, les concentrations de BPA, BPAG et BPAS ont augmenté progressivement pour atteindre leur maximum quelques heures après la dernière administration de BPAG. Ensuite, celles-ci sont restées relativement constantes (figure 21).

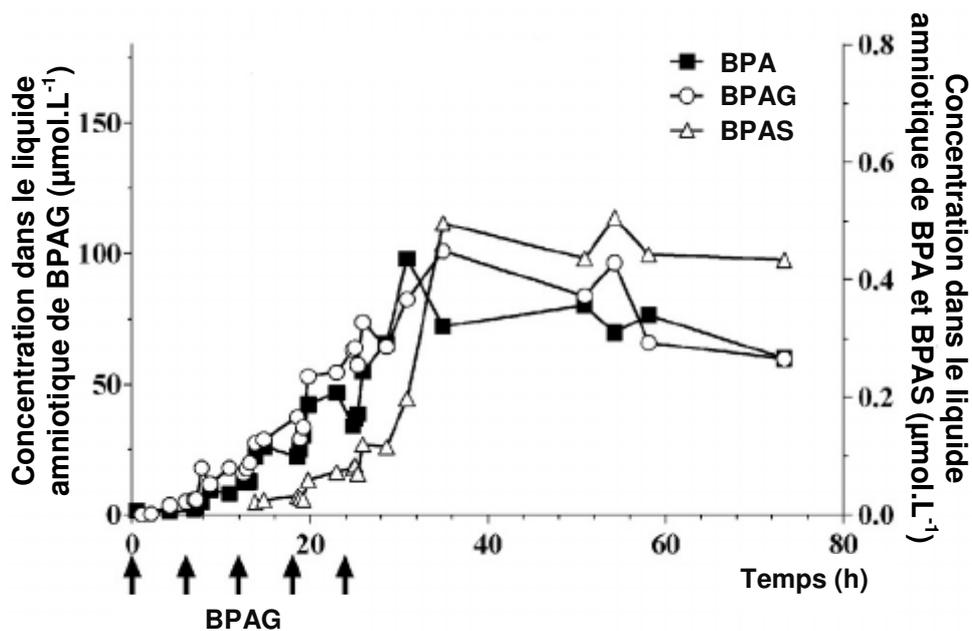


Figure 21 : Évolution temporelle des concentrations moyennes dans le liquide amniotique de BPA, BPAG et BPAS après 5 administrations IV fœtales répétées de BPAG (24,8 µmol.kg⁻¹, 6 heures d'intervalle)

2.2.2. Données maternelles

Les concentrations plasmatiques maternelles de BPAG étaient fluctuantes mais ont eu tendance à augmenter au cours de la période d'administration. Quelques valeurs de concentration de BPA et BPAS ont été mesurées proches de la LOQ du dosage, principalement après la dernière administration de BPAG (figure 22).

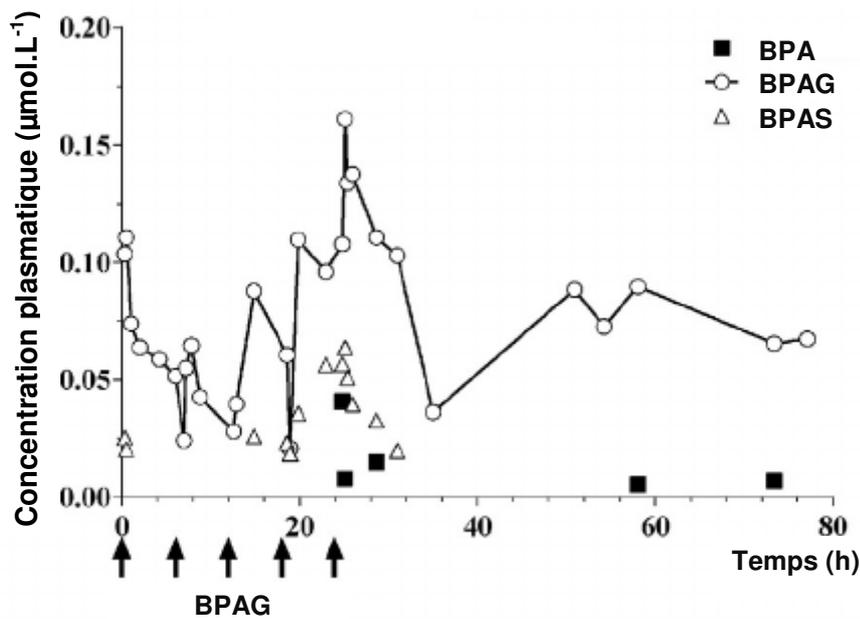


Figure 22 : Évolution temporelle des concentrations plasmatiques maternelles moyennes de BPA, BPAG et BPAS après 5 administrations IV fœtales répétées de BPAG (24,8 µmol.kg⁻¹, 6 heures d'intervalle)

Au cours de la période de prélèvement (78 heures suivant la première administration), le pourcentage de BPAG transféré du fœtus à sa mère a été estimé à 33 ± 13 %. Sur cette même période, en utilisant la clairance fœtale moyenne du BPA calculée lors de la première expérience, on peut estimer le pourcentage de BPAG hydrolysé dans le compartiment fœtal à 21 ± 12 %. Cependant, si l'on extrapole la courbe à l'infini, on peut estimer à 71 ± 37 % le pourcentage de BPAG hydrolysé dans le compartiment fœtal.

Au cours des 34 heures suivant l'administration de BPAG, $6,4 \pm 1,3$ % des doses de BPAG administré au fœtus ont été retrouvés dans les urines maternelles (figure 23).

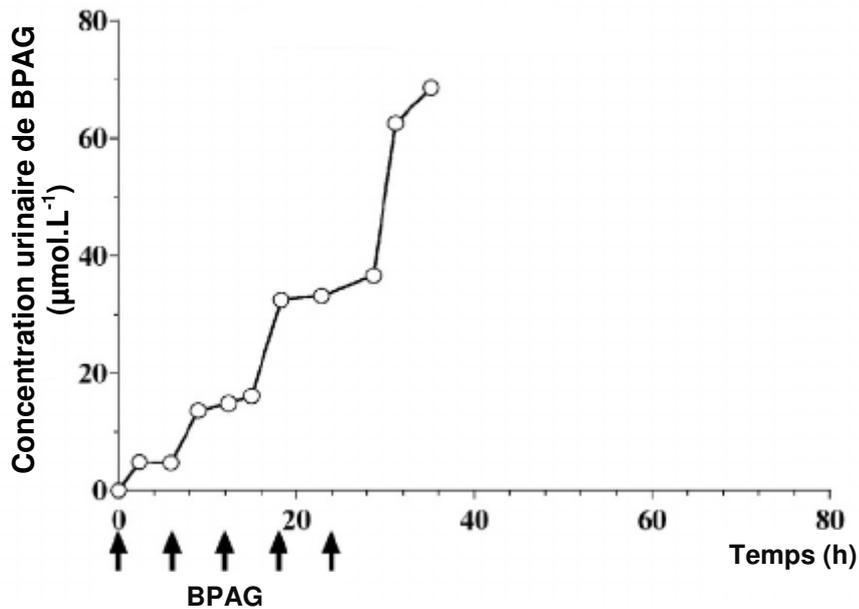


Figure 23 : Évolution temporelle des concentrations urinaires maternelles moyennes de BPAG après 5 administrations IV fœtales répétées de BPAG ($24,8 \mu\text{mol.kg}^{-1}$, 6 heures d'intervalle)

2.3. Simulation des concentrations plasmatiques maternelles et fœtales de BPA et de BPAG

L'analyse des données à l'aide du logiciel Phoenix[®] a permis d'établir un modèle toxicocinétique à 4 compartiments (figure 24). Selon ce modèle, après une administration IV de BPA à la mère, une faible proportion de BPA (4,5 %) passe dans le compartiment fœtal tandis que le reste (95,5 %) est glucuronoconjugué dans le compartiment maternel puis éliminé dans les urines. Une partie (30 %) du BPA transféré au fœtus est métabolisée en BPAG tandis que 70 % sont éliminés par transfert maternel dans le compartiment maternel. Le BPAG fœtal est uniquement hydrolysé dans le compartiment fœtal. L'hydrolyse du BPA dans le compartiment maternel n'a pas été mise en évidence en raison probablement de son élimination urinaire.

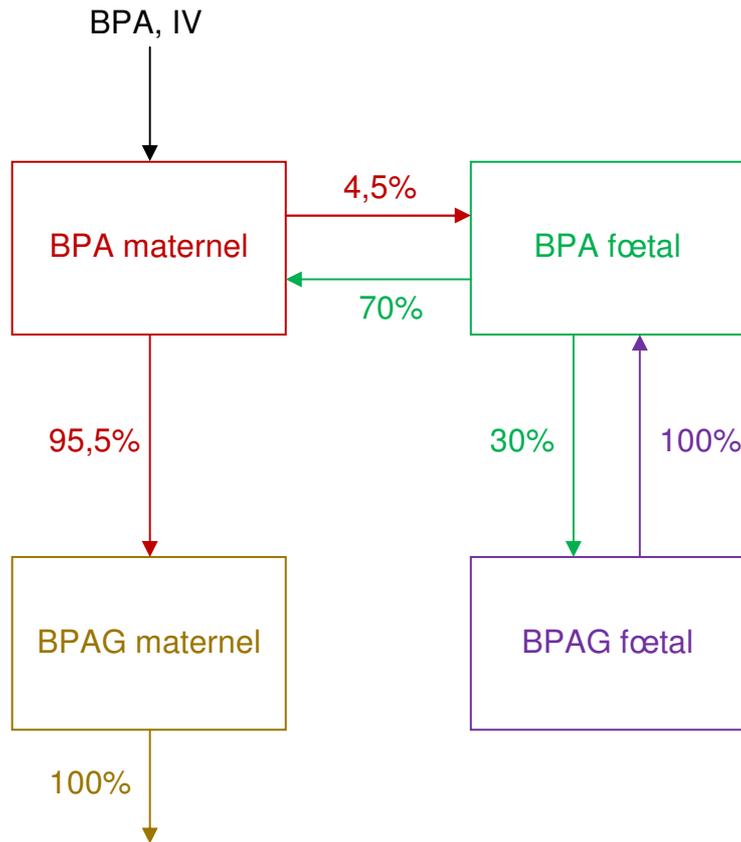


Figure 24 : Modèle toxicocinétique compartimental (4 compartiments) pour le BPA et le BPAG sur le modèle de la brebis gravide utilisé pour prédire l'évolution des concentrations de BPA et de BPAG dans un scénario d'administrations répétées de BPA à la mère

La figure 25 illustre l'évolution temporelle des concentrations plasmatiques maternelles et fœtales en BPA et BPAG prédites par ce modèle au cours d'un scénario d'administrations maternelles répétées de BPA à la dose de $1 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (soit $2,5 \text{ nmol.kg}^{-1}$). Les courbes de concentrations fœtales et maternelles de BPA se caractérisent par une succession de pics et de vallées. La concentration maximale de BPA est 7 fois plus importante pour l'adulte que pour le fœtus tandis que les concentrations basales en BPA sont 7 fois plus faibles pour l'adulte que pour le fœtus. De plus, cette simulation a permis de mettre en évidence une augmentation de la concentration basale de BPA chez la mère (d'un facteur 3) et chez le fœtus (d'un facteur 8) entre la première et la dernière administration, alors que les concentrations maximales ne sont pas modifiées (figure 25).

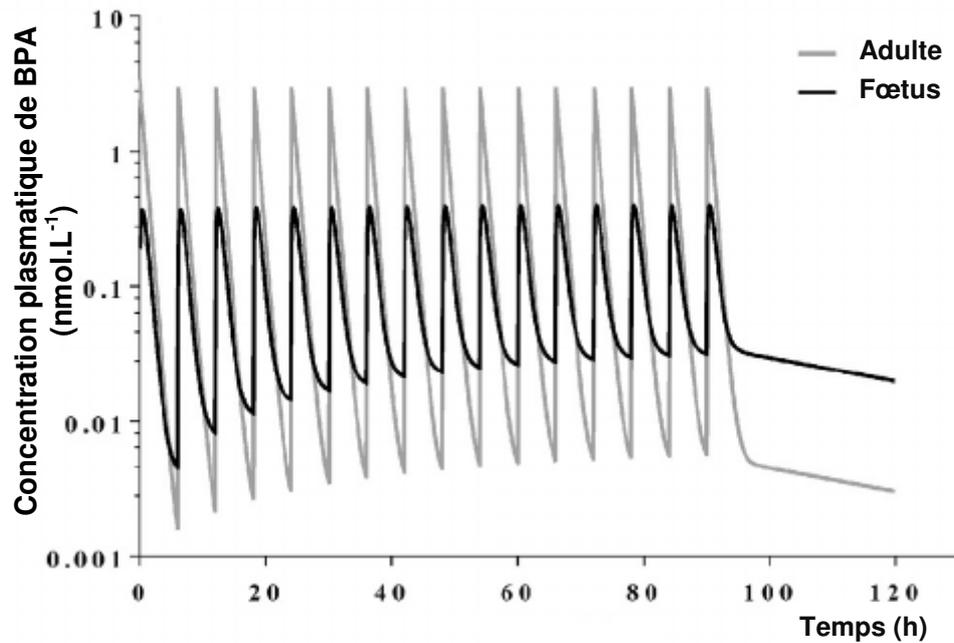


Figure 25 : Évolution des concentrations plasmatiques maternelles et fœtales prédites de BPA au cours du temps après 16 administrations IV répétées de BPA ($2,5 \text{ nmol.kg}^{-1}$, 6 heures d'intervalle) sur un modèle de brebis gravide

Les courbes des concentrations plasmatiques maternelles et fœtales de BPAG sont très différentes entre la mère et le fœtus : tandis que la courbe des concentrations plasmatiques maternelles se compose d'une succession des pics et de vallées sans augmentation des concentrations au pic au cours du temps, la courbe des concentrations plasmatiques fœtales met en évidence une augmentation progressive des concentrations en BPAG qui tendent à atteindre un plateau à partir de la 20^{ème} heure. On peut aussi constater qu'entre la première et la dernière administration (90 heures), la concentration en BPAG a augmenté d'un facteur 8. On observe de plus une persistance de l'exposition fœtale caractérisée par une concentration basale 200 fois plus faible chez la mère que chez le fœtus (figure 26).

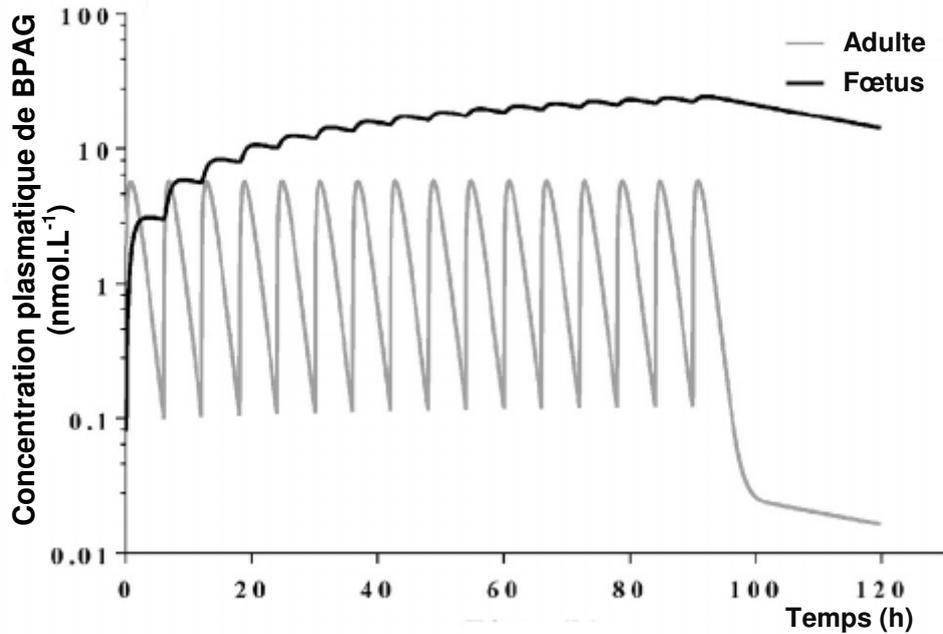


Figure 26 : Évolution des concentrations plasmatiques maternelles et fœtales prédites de BPAG au cours du temps après 16 administrations IV répétées de BPA ($2,5 \text{ nmol.kg}^{-1}$, 6 heures d'intervalle) sur un modèle de brebis gravide

On peut donc observer que si le BPA issu de l'hydrolyse du BPAG est rapidement éliminé du compartiment fœtal par transfert placentaire, le BPAG forme une réserve dans le compartiment fœtal responsable du maintien de concentrations plasmatiques basales de BPA élevées à la fois dans le compartiment fœtal et maternel entre les pics. De plus, on observe qu'au-delà de la dernière administration, les concentrations plasmatiques fœtales de BPA restent 7 fois plus élevées que celles de l'adulte.

2.4. Calcul du degré d'augmentation de l'exposition

Si l'on suppose que le l'hydrolyse est le seul mécanisme d'élimination du BPAG (c'est-à-dire que le BPAG ne peut pas traverser directement le placenta), on peut alors considérer que la clairance fœtale du BPAG se limite à la clairance d'hydrolyse de celui-ci.

On peut ainsi calculer le degré d'augmentation de l'exposition au BPA selon l'équation suivante (le système est celui décrit dans la partie 1.7.1.2) :

$$\begin{aligned}
EE &= 1 + \frac{Cl_{gBPA} \times Cl_{fBPAG}}{Cl_{fBPA} \times Cl_{fBPAG} - Cl_{gBPA} \times Cl_{fBPAG}} \\
&= 1 + \frac{Cl_{gBPA} \times Cl_{fBPAG}}{(Cl_{tBPA} + Cl_{gBPA}) \times Cl_{fBPAG} - Cl_{gBPA} \times Cl_{fBPAG}} = 1 + \frac{Cl_{gBPA}}{Cl_{tBPA}} \\
&= 1,43
\end{aligned}$$

où la clairance fœtale de glucuroconjugaison (Cl_{gBPA}) est calculée selon le modèle présenté en figure 24, soit 30 % de la clairance fœtale ($4,5 \text{ L.h}^{-1}.\text{kg}^{-1}$) et où la clairance placentaire fœto-maternelle du BPA (Cl_{tBPA}) est estimée à 70 % de la clairance fœtale ($10,4 \text{ L.h}^{-1}.\text{kg}^{-1}$).

A partir de ces valeurs, le degré d'augmentation de l'exposition au BPA a donc été de 1,43.

Le coefficient d'accumulation du BPA, calculé chez le fœtus entre la première et la dernière administration, a quant à lui été de 1,40.

3. Discussion

3.1. Apports de cette étude

Cette étude est la première à quantifier la clairance plasmatique fœtale du BPAG et métabolique du BPA, ainsi que la réactivation du BPAG en BPA dans la circulation fœtale qui fait suite à l'hydrolyse du BPAG. Ainsi, à partir de ces paramètres, nous avons pu montrer que 70 % du BPA entrant dans la circulation fœtale est rapidement éliminé par retour dans la circulation maternelle, tandis que 30 % de celui-ci est métabolisé en BPAG. Ce BPAG est ensuite lentement éliminé après hydrolyse (figure 27). La réactivation du BPAG en BPA dans le compartiment fœtal suite à son hydrolyse conduit à l'augmentation de la persistance du BPA dans la circulation fœtale.

Dans le compartiment maternel, 4,5 % de la dose interne de BPA est transférée dans le compartiment fœtal, tandis que 95,5 % est métabolisé en BPAG qui est rapidement éliminé dans les urines.

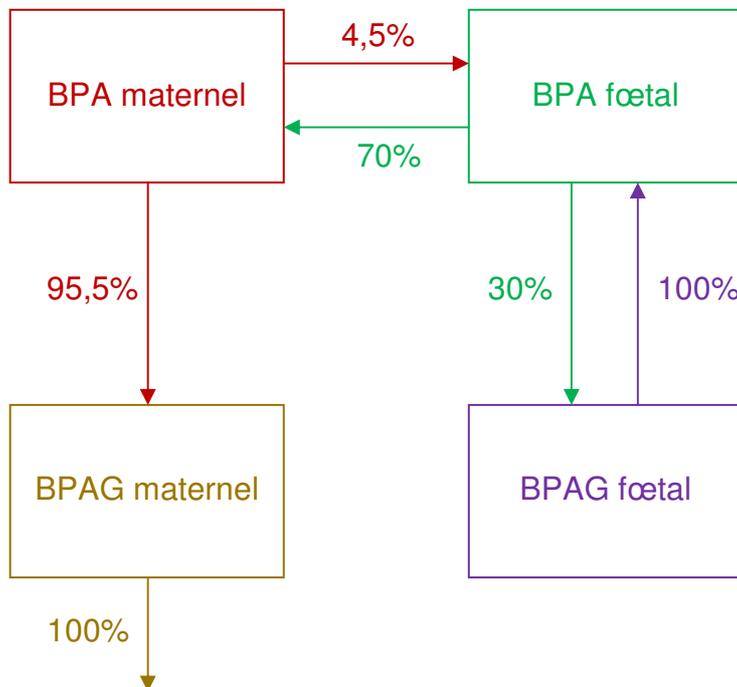


Figure 27 : Modèle toxicocinétique compartimental (4 compartiments) pour le BPA et le BPAG chez la brebis gravide

De plus, si l'on compare le modèle ainsi établi à un modèle ne prenant pas en compte les inter-conversions entre BPA et BPAG, on peut observer une augmentation dans notre modèle de 43 % de l'exposition fœtale au BPA, liée à l'hydrolyse du BPAG.

Ainsi, en raison du piégeage du BPAG dans le compartiment fœtal et du cycle futile de conjugaison et d'hydrolyse, la glucuroconjugaison ne peut pas être considérée chez le fœtus comme un mécanisme de détoxification mais au contraire comme un mécanisme entretenant la persistance de la présence de BPA dans la circulation fœtale. En effet, même si une étude, réalisée *in vitro* sur des adipocytes d'homme et de souris, rapporte des effets directement causés par le BPAG sur l'adipogenèse (Boucher et coll., 2015), la glucuroconjugaison du BPA a jusqu'alors été considérée dans les études toxicologiques comme un mécanisme de détoxification.

3.1.1. Devenir du BPA fœtal

Le transfert par le placenta de BPA du fœtus à sa mère est très rapide. Ainsi, après administration fœtale de BPA, la concentration maximale de BPA dans le plasma maternel est obtenue au premier prélèvement (7 minutes après administration). De plus, deux tiers de la dose de BPA administrée au fœtus est éliminée par les urines de la mère au cours des trois premières heures suivant l'administration fœtale. Ainsi, 70 % de la dose fœtale de BPA rejoint rapidement la circulation maternelle par transfert transplacentaire.

Une fraction plus faible, 30 % du BPA administré au fœtus, est quant à elle glucuroconjuguée.

3.1.2. Contribution du BPAG à l'exposition fœtale

La contribution du BPAG à l'exposition fœtale au BPA a été mise en évidence suite à l'administration de BPAG au fœtus. Ainsi, après une administration unique de BPAG, des concentrations faibles et stables de BPA et de BPAG ont été observées respectivement chez le fœtus et chez la mère. Aucune relation de proportionnalité n'a pu être établie entre les valeurs des concentrations de BPAG chez le fœtus et chez la mère, contrairement aux concentrations maternelles et fœtales de BPA. Ceci nous confirme donc que le BPAG du fœtus ne peut pas passer directement de la circulation sanguine fœtale à celle de l'adulte, mais doit subir une déconjugaison dans le compartiment fœtal pour traverser la barrière fœto-placentaire.

Ainsi, le BPAG fœtal est lentement éliminé, après son hydrolyse en BPA dans le compartiment fœtal. De plus, malgré la faible proportion de BPA maternel passant dans la circulation fœtale, la clairance fœtale du BPAG étant plus de 700 fois plus faible que celle du BPA, le BPAG s'accumule dans le compartiment fœtal et des concentrations plasmatiques faibles mais croissantes de BPA sont observées dans le compartiment fœtal.

Enfin, on peut observer que le BPAG et le BPA issu de l'hydrolyse de celui-ci présentent un temps de demi-vie similaire (quelques dizaines d'heures). Au contraire, le temps de demi-vie du BPA issu d'une administration au fœtus est beaucoup plus faible ($0,31 \pm 0,030$ h). On peut donc supposer qu'il existe une dernière phase dans l'élimination du BPA de la circulation fœtale, très lente, qui s'explique par le retour progressif du BPA issu de l'hydrolyse du BPAG dans le compartiment fœtal.

Le calcul du degré d'augmentation de l'exposition au BPA (1,43) permet de montrer que le retour du BPA dans la circulation fœtale par hydrolyse du BPAG entraîne une augmentation de l'exposition du fœtus au BPA de 43 %, tandis que le degré d'accumulation de BPA dans le compartiment fœtal a été évalué à 1,4 à l'équilibre.

3.1.3. Caractérisation de l'exposition fœtale au BPA et au BPAG

Dans notre modèle de prédiction de l'exposition fœtale et maternelle après administrations répétées de BPA à la mère, l'évolution temporelle des concentrations plasmatiques fœtales de BPA a été caractérisée par des pics de concentrations moins élevés que chez la mère, mais aussi par des concentrations basales plus élevées. Ainsi, le fœtus est protégé des concentrations élevées de BPA mais présente des risques plus élevés d'exposition prolongée à des concentrations basales supérieures à celles de l'adulte. Celui-ci est exposé à des concentrations maximales en BPA supérieures à celles du fœtus, mais élimine très rapidement le BPAG dans les urines.

Notre modèle montre de plus que si l'exposition fœtale au BPA est fluctuante, celle au BPAG est relativement constante, y compris entre les administrations.

3.2. Intérêt du plan expérimental

Les résultats de cette étude ont été obtenus en établissant la cinétique du BPA, du BPAG et du BPAS dans le plasma fœtal, dans le plasma maternel, le liquide amniotique et les urines maternelles après différents schémas d'administrations fœtales ou adultes de BPA et de BPAG.

Ainsi, dans la première expérience, après la réalisation des mesures des paramètres toxicocinétiques du fœtus, une césarienne est réalisée et les cinétiques de BPA et BPAG sont établies dans le plasma et les urines maternels après administrations maternelles de BPA et de BPAG. Ces mesures permettent ainsi de caractériser la toxicocinétique maternelle du BPA et du BPAG, nécessaire à la compréhension des échanges fœto-maternels.

Dans la seconde expérience, l'utilisation d'administrations répétées de BPAG a permis de caractériser l'exposition du fœtus au BPA, ainsi que celle de sa mère au BPAG, résultant de l'hydrolyse du BPAG dans le compartiment fœtal. En effet, l'administration unique de BPAG au cours de la première expérience conduisait à des valeurs de concentrations fœtales de BPA et maternelles de BPAG proches de la LOQ tandis que la réalisation d'administrations répétées a permis d'obtenir des concentrations de BPA suffisamment élevées pour permettre l'estimation de l'exposition fœtale.

De plus, cette phase expérimentale a permis de mettre en évidence qu'une part du BPAG hydrolysé en BPA est métabolisé en BPAS. En effet, l'utilisation de BPAG ne contenant pas de BPAS permet d'affirmer que le BPAS présent dans le compartiment fœtal provient de la sulfoconjugaison du BPA issu lui-même de la déconjugaison du BPAG administré. Bien que celui-ci n'ait pas fait l'objet d'une étude approfondie dans notre travail, nous pouvons supposer qu'il constitue une forme de « réserve » lentement déconjugué de façon similaire au BPAG et qu'il est ensuite éliminé vers la circulation maternelle ou glucuroconjugué en BPAG ([Ginsberg et coll., 2009](#)).

3.3. Limites du modèle ovin

Dans notre étude, le modèle du fœtus ovin instrumenté a été choisi pour évaluer l'exposition fœtale.

Bien que ce modèle présente des avantages incontestables, il présente une limite principale : en effet, la cathéterisation du fœtus ne peut être réalisée que dans la dernière partie de la gestation. Or, plusieurs études ont montré que la capacité du fœtus à métaboliser et à éliminer le BPA dépendait de son stade de développement ([Doerge et coll., 2011](#) ; [Vom Saal et coll., 2014](#)).

En effet, le métabolisme hépatique fœtal évolue au cours de la vie fœtale en fonction des profils enzymatiques différents selon le stade de gestation ([Ring et coll., 1999](#)). Ainsi, au début de la vie fœtale, la sulfoconjugaison prédomine tandis que la glucuroconjugaison prend de l'importance à partir de la seconde moitié de la gestation ([Corbel et coll., 2015](#)).

Ainsi, notre étude ne permet de caractériser l'exposition fœtale qu'au cours de la dernière partie de la gestation.

Conclusion

Cette étude a permis de proposer un modèle toxicocinétique de l'exposition fœtale au BPA et au BPAG. En particulier, une estimation de la clairance fœtale du BPAG, de la clairance de glucuroconjugaison du BPA et de la réactivation du BPAG en BPA dans la circulation fœtale après hydrolyse du BPAG a été proposée pour la première fois. La détermination de ces paramètres nous a en particulier permis d'établir le rôle du métabolisme réversible entre le BPA et le BPAG jusque-là considéré comme marginal dans l'analyse toxicocinétique.

Nous avons donc démontré qu'une petite proportion (4,5 %) de BPA administré à la mère est transférée au fœtus qui peut en métaboliser une partie (30 %) en BPAG. Le BPAG fœtal est ensuite lentement hydrolysé en BPA qui passe du fœtus à sa mère, et qui est ensuite éliminé rapidement dans les urines sous forme de BPAG.

L'établissement d'un tel modèle nous a permis, d'une part de caractériser l'impact d'une administration maternelle de BPA sur l'exposition du fœtus à cette même substance, et d'autre part de démontrer que dans un contexte, plus conforme à l'exposition réelle au BPA, d'administrations répétées, les inter-conversions BPA-BPAG dans le compartiment fœtal conduisent à des profils de concentrations très différents chez la mère et son fœtus. Ainsi, l'adulte est plutôt exposé à des concentrations élevées en BPA sur une courte durée tandis que le fœtus est exposé à des concentrations basales supérieures. Il faudrait donc maintenant, pour étudier la toxicité du BPA chez le fœtus, ne pas seulement prendre simplement en compte les effets concentration-dépendant mais aussi les effets temps-dépendant de ce profil particulier d'exposition fœtale au BPA.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussignée, Véronique GAYRARD, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Pierre MINDEGUIA** intitulée « Développement d'un modèle toxicocinétique pour évaluer l'exposition fœtale au bisphénol A et au bisphénol A-glucuroconjugué. » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

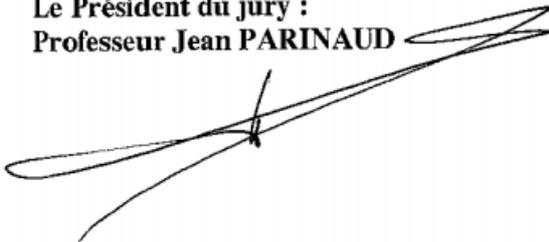
Fait à Toulouse, le 20 mars 2017
Professeur Véronique GAYRARD
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



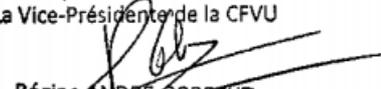
Vu :
La Directrice de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Isabelle CHMITELIN



Vu :
Le Président du jury :
Professeur Jean PARINAUD



Vu et autorisation de l'impression :
Président de l'Université
Paul Sabatier
Monsieur Jean-Pierre VINEL
Le Président de l'Université Paul Sabatier
par délégation,
La Vice-Présidente de la CFVU



Régine ANDRÉ-OBRECHT

Conformément à l'Arrêté du 20 avril 2007, article 6, la soutenance de la thèse ne peut être autorisée qu'après validation de l'année d'approfondissement.

Bibliographie

[1] ANSES (2011). *Effets sanitaires du bisphénol A. Rapport d'expertise collective. Connaissances relatives aux usages du bisphénol A*. Maisons-Alfort : Anses Éditions. 383 p. ISBN 978-2-11-128696-2.

[2] ANSES (2013). *Évaluation des risques du bisphénol A (BPA) pour la santé humaine*. Maisons-Alfort : Anses Éditions. 282 p. ISBN 978-2-11-2917-3.

[3] ANSES (2016). Bisphénol A. Travaux de l'Anses sur les usages et effets, recommandations. Disponible sur : <https://www.anses.fr/fr/content/bisph%C3%A9nol> (consulté le 07/12/2016).

[4] ARBUCKLE T.E., DAVIS K., MARRO L., FISHER M., LEGRAND M., LEBLANC A., GAUDREAU E., FOSTER W.G., CHOEURNG V., FRASER W.D., the MIREC Study Group (2014). Phthalate and bisphenol A exposure among pregnant women in Canada - Results from the MIREC study. *Environment International*, **68** : 55-65.

[5] ASTER N. (2014). Global BPA production to exceed 5.4 Mln tones by 2015, according to in-demand report by merchant research & consulting. Disponible sur : <http://www.prweb.com/releases/2014/04/prweb11761146.htm> (consulté le 07/12/2016).

[6] BARRY J.S., ANTHONY R.V. (2008). The pregnant sheep as a model for human pregnancy. *Theriogenology*, **69** (1) : 55-67.

[7] BAZER F.W., SPENCER T.E., THATCHER W.W. (2012). Growth and development of the ovine conceptus. *Journal of Animal Science*, **90** : 159-170.

[8] BECKER K., GOEN T., SEIWERT M., CONRAD A., PICK-FUß H., MULLER J., WITTASSEK M., SCHULZ C., KOLOSSA-GEHRING M. (2009). GerES IV: Phthalate metabolites and bisphenol A in urine of German children. *International journal of hygiene and environmental health*, **212** : 686-692.

- [9] BEVERLY S.R., SOTO A.M. (2009). Bisphenol A: Perinatal exposure and body weight. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **304** : 55-62.
- [10] BOUCHER J.G., BOUDREAU A., AHMED S., ATLAS E. (2015). In vitro effects of bisphenol A β -D-glucuronide (BPA-G) on adipogenesis in human and murine preadipocytes. *Environmental Health Perspectives*, **123** : 1287-1293.
- [11] CABATON N.J., WADIA P.R., RUBIN B.S., ZALCO D., SCHAEBERLE C.M., ASKENASE M.H., GADBOIS J.L., THARP A.P., WHITT G.S., SONNENSCHNEIN C., SOTO A.M. (2011). Perinatal exposure to environmentally relevant levels of bisphenol A decreases fertility and fecundity in CD-1 mice. *Environmental Health Perspectives*, **119** : 547-552.
- [12] CALAFAT A.M., YE X., WONG L.-Y., REIDY J.A., NEEDHAM L.L. (2008). Exposure of the U.S. population to bisphenol A and 4-tertiary-Octylphenol: 2003-2004. *Environmental Health Perspectives*, **116** (1) : 39-44.
- [13] CHENG H., JUSKO W.J. (1993). Pharmacokinetics of reversible metabolic systems. *Biopharmaceutics & drug disposition*, **14** : 721-766.
- [14] CHO C.Y., SHIN B.S., JUNG J.H., KIM D.H., LEE K.C., HAN S.Y., KIM H.S., LEE B.M., YOO S.D. (2002). Pharmacokinetic scaling of bisphenol A by species-invariant time methods. *Xenobiotica*, **32** : 925-934.
- [15] COLBORN T., VOM SAAL F.S., SOTO A.M. (1993). Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environmental Health Perspectives*, **101** (5) : 378-384.
- [16] COLLET S. (2012). *Développement d'une approche toxicocinétique/toxicodynamique basée sur des mécanismes physiologiques pour évaluer les effets oestrogéniques du Bisphénol A*. Thèse de Doctorat d'Université, Pathologie, Toxicologie, Génétique et Nutrition, Université de Toulouse, 204 p.

- [17] COLLET S., PICARD-HAGEN N., LACROIX M. Z., PUEL S., VIGUIE C., BOUSQUET-MELOU A., TOUTAIN P.-L., GAYRARD V. (2015). Allometric scaling for predicting human clearance of bisphenol A. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **284** : 323-329.
- [18] CORBEL T., GAYRARD V., VIGUIE C., PUEL S., LACROIX M. Z., TOUTAIN P.-L., PICARD-HAGEN N. (2013), Bisphenol A disposition in the sheep maternal-placental-fetal unit: mechanisms determining fetal internal exposure. *Biology of reproduction*, **89** (1) : 11, 1-9.
- [19] CORBEL T., GAYRARD V., PUEL S., LACROIX M. Z., BERREBI A., GIL S., VIGUIE C., TOUTAIN P.-L., PICARD-HAGEN N. (2014). Bidirectional placental transfer of Bisphenol A and its main metabolite, Bisphenol A-Glucuronide, in the isolated perfused human placenta. *Reproductive Toxicology*, **47** : 51-58.
- [20] CORBEL T., PERDU E., GAYRARD V., PUEL S., LACROIX M.Z., VIGUIE C., TOUTAIN P.L., ZALKO D., PICARD-HAGEN N. (2015). Conjugation and deconjugation reactions within the fetoplacental compartment in a sheep model: a key factor determining bisphenol A fetal exposure. *Drug metabolism and disposition*, **43** : 467-476.
- [21] CORRALES J., KRISTOFOCO L.A., STEELE W.B., YATES B.S., BREED C.S., W.E. SPENCER, BROOKS B.W. (2015). Global assessment of bisphenol A in the environment: review and analysis of its occurrence and bioaccumulation. *Dose-response: an international journal*, **13** (3) : 1-29.
- [22] CSANADY G.A., OBERSTE-FRIELINGHAUS H.R., SEMDER B., BAUR C., SCHNEIDER K.T., FILSER J.G. (2002). Distribution and unspecific protein binding of the xenoestrogens bisphenol A and daidzein. *Archives of toxicology*, **76** : 299-305.
- [23] DEMIERRE A.-L., PETER R., OBERLI A., BOURQUI-PITTET M. (2012). Dermal penetration of bisphenol A in human skin contributes marginally to total exposure. *Toxicology Letters*, **213** (3) : 305-308.

- [24] DEREUMEAUX C., GULDNER L., SAOUDI A., PECHEUX M., DE CROUY-CHANEL P., BERAT B. (2016). *Imprégnation des femmes enceintes par les polluants de l'environnement en France en 2011. Volet périnatal du programme national de biosurveillance mis en œuvre au sein de la cohorte Elfe. Tome 1 : polluants organiques*. Saint-Maurice : Santé publique France. 12 p. ISBN : 979-10-289-0306-0.
- [25] DOERGE D.R., TWADDLE N.C., VANLANDINGHAM M., BROWN R.P., FISHER J.W. (2011). Distribution of bisphenol A into tissues of adult, neonatal, and fetal Sprague-Dawley rats. *Toxicology and applied pharmacology*, **255** : 261-270.
- [26] EFSA (2006). Opinion of the scientific panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food on a request from the commission related to 2,2-bis(4-hydroxyphenyl)Propane (Bisphenol A). *The EFSA Journal*, **428** : 1-75.
- [27] EFSA (2015). Scientific opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs: executive summary. *The EFSA Journal*, **13** (1) : 3978-5018.
- [28] EFSA (2015bis). *Avis scientifique sur le bisphénol A (2015)*. Parme : Autorité européenne de sécurité des aliments. 4 p. ISBN 978-92-9199-641-4.
- [29] FALCY M., JARGOT D., LA ROCCA B., MIRAVAL S., PILLIERE F., ROBERT S., SIMONNARD A. (2013). Bisphénol A. *INRS : fiche toxicologique*, **279** : 1-10.
- [30] FAO, OMC (2010). *Toxicological and Health Aspects of Bisphenol A*. Ottawa. 60 p. ISBN 978 92 14 156427 4.
- [31] FDA (2008). Draft assessment of bisphenol A for use in food contact applications. Disponible sur : http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/08/briefing/2008-0038b1_01_02_FDA%20BPA%20Draft%20Assessment.pdf
(consulté le 07/12/2016).

- [32] GAYRARD V., LACROIX M.Z., COLLET S.H., VIGUIÉ C., BOUSQUET-MELOU A., TOUTAIN P.-L., PICARD-HAGEN N. (2013). High bioavailability of bisphenol A from sublingual exposure. *Environmental Health Perspectives*, **121** (8) : 951-956.
- [33] GEENS T., ROOSENS L., NEELS H., COVACI A. (2009). Assessment of human exposure to Bisphenol-A, Triclosan and Tetrabromobisphenol-A through indoor dust intake in Belgium. *Chemosphere*, **76** (6) : 755-760.
- [34] GEENS T., APELBAUM T.Z., GOEYENS L., NEELS H., COVACI A. (2010). Intake of bisphenol A from canned beverages and foods on the Belgian market. *Food Additives and Contaminants: Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, **27** (11) : 1627-1637.
- [35] GIBALDI M., PERRIER D. (1982). *Pharmacokinetics*. Second edition, revised and expanded. New York : Marcel Dekker. 494 p. ISBN 9781420089141.
- [36] GILBERT W.M. (2006). Amniotic fluid dynamics. *NeoReviews*, **7** : 292-299.
- [37] GINSBERG G., RICE D.C. (2009). Does rapid metabolism ensure negligible risk from bisphenol A? *Environmental Health Perspectives*, **117** : 1639-1643.
- [38] IKEZUKI Y., TSUTSUMI O., TAKAI Y., KAMEI Y., TAKETANI Y. (2002). Determination of bisphenol A concentrations in human biological fluids reveals significant early prenatal exposure. *Human Reproduction*, **17** (11) : 2839-2841.
- [39] INOUE H., YOKOTA H., MAKINO T., YUASA A., KATO S. (2001). Bisphenol a glucuronide, a major metabolite in rat bile after liver perfusion. *Drug Metabolism and Disposition*, **29** (8) : 1084-1087.
- [40] JACQZ-AIGRAIN E. (1999). Transfert placentaire des médicaments et risques foetaux. *Médecine thérapeutique / Pédiatrie*, **4** (9) :737-742.

- [41] JEDEON K., DE LA DURE-MOLLA M., BROOKES S.J., LOIODICE S., MARCIANO C., KIRKHAM J., CANIVENC-LAVIER M.C., BOUDALIA S., BERGES R., HARADA H., BERDAL A., BABAJKO S. (2013). Enamel Defects Reflect Perinatal Exposure to Bisphenol A. *The American Journal of Pathology*, **183** (1) : 108-118.
- [42] KISERUD T., RASMUSSEN S., SKULSTAD S. (2000). Blood flow and the degree of shunting through the ductus venosus in the human fetus. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **182** : 147-153.
- [43] KUIPER G.G., LEMMEN J.G., CARLSSON B., CORTON J.C., SAFE S.H., VAN DER SAAG P.T., VAN DER BURG B., GUSTAFSSON J.A. (1998). Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. *Endocrinology*, **139** : 4252-4263.
- [44] KUREBAYASHI H., OKUDAIRA K., OHNO Y. (2010). Species difference of metabolic clearance of bisphenol A using cryopreserved hepatocytes from rats, monkeys and humans. *Toxicology letters*, **198** (2) : 210-215.
- [45] LACROIX M.Z., PUEL S., COLLET S.H., CORBEL T., PICARD-HAGEN N., TOUTAIN P.-L., VIGUIÉ C., GAYRARD V. (2011). Simultaneous quantification of bisphenol A and its glucuronide metabolite (BPA-G) in plasma and urine: Applicability to toxicokinetic investigations. *Talanta*, **85** (4) : 2053-2059.
- [46] LE H.H., CARLSON E.M., CHUA J.P., BELCHER S.M. (2008). Bisphenol A is released from polycarbonate drinking bottles and mimics the neurotoxic actions of estrogen in developing cerebellar neurons. *Toxicology Letters*, **176** (2) : 149-156.
- [47] LEE Y.L., RYU H.-Y., KIM H.-K., MIN C.S., LEE J.H., KIM E., NAM B.H., PARK J.H., JUNG J.Y., JANG D.D., PARK E.Y., LEE K.-H., MA J.-Y., WON H.-S., IM M.-W., LEEM J.-H., HONG Y.-C., YOON H.-S. (2008). Maternal and fetal exposure to bisphenol A in Korea. *Reproductive Toxicology*, **25** : 413-419.

[48] LEGIFRANCE, le service public de l'accès au droit. Disponible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000026830015> (consulté le 24/10/2016).

[49] LIAO C., KANNAN K. (2012). Determination of free and conjugated forms of bisphenol A in human urine and serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Environmental Science & Technology*, **46** (9) : 5003-5009.

[50] LOICHOT C., GRIMA M. (2004). Médicaments et grossesse. Faculté de Médecine de Strasbourg [en ligne], 1-11. http://udsmed.u-strasbg.fr/pharmaco/pdf/DCEM1_Pharmacologie_chapitre_11_Medicaments_et_grossesse_septembre_2005.pdf (consulté le 09/12/2016).

[51] MATTHEWS J.B., TWOMEY K., ZACHREWSKI T.R. (2001). In vitro and in vivo interactions of bisphenol A and its metabolite, bisphenol A glucuronide, with estrogen receptors alpha and beta. *Chemical research in toxicology*, **14** (2) : 149-157.

[52] NDAW S., REMY A., JARGOT D., ROBERT A. (2016). Occupational exposure of cashiers to Bisphenol A via thermal paper: urinary biomonitoring study. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, **89** : 935-946.

[53] NTP (1982). Carcinogenesis Bioassay of Bisphenol A (CAS No. 80-05-7) in F344 Rats and B6C3F1 Mice (Feed Study). Technical report Series No. 215. 116 p.

[54] PADMANABHAN V., SIEFERT K., RANSOM S., JOHNSON T., PINKERTON J., ANDERSON L., TAO L., KANNAN K. (2008). Maternal bisphenol-A levels at delivery: a looming problem? *Journal of Perinatology*, **28** : 258-263.

[55] PATTERSON T.A., TWADDLE N.C., ROEGGE C.S., CALLICOTT R.J., FISHER J.W., DOERGE D.R. (2013). Concurrent determination of bisphenol A pharmacokinetics in maternal and fetal rhesus monkeys. *Toxicology and applied pharmacology*, **267** : 41-48.

- [56] PHILBERT M.A., BUSHNELL P.J., HU H., VANDENBERG J.J., FITZGERALD G., CALAFAT A.M., ROCKETTE H. (2008). Scientific peer-review of the draft assessment of bisphenol A for use in food contact applications. Disponible sur : <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/08/briefing/2008-4386b1-05.pdf> (consulté le 07/12/2016).
- [57] POTTENGER L.H., DOMORADZKI J.Y., MARKHAM D.A., HANSEN S.C., CAGEN S.Z., WAECHTER J.M. (2000). The relative bioavailability and metabolism of bisphenol A in rats is dependent upon the route of administration. *Toxicological Sciences*, **54** (1) : 3-18.
- [58] QUIRÓS-ALCALÁ L., ESKENAZI B., BRADMAN A., YE X., CALAFAT A.M., HARLEY K. (2013). Determinants of urinary bisphenol A concentrations in Mexican/Mexican–American pregnant women. *Environment International*, **59** : 152-160.
- [59] RING J.A., GHABRIAL H., CHING M.S., SMALLWOOD R.A., MORGAN D.J. (1999). Fetal hepatic drug elimination. *Pharmacology & therapeutics*, **84** (3) : 429-445.
- [60] RUBIN B.S., MURRAY M.K., DAMASSA D.A., KING J.C., SOTO A.M. (2001). Perinatal Exposure to Low Doses of Bisphenol A Affects Body Weight, Patterns of Estrous Cyclicity, and Plasma LH Levels. *Environmental Health Perspectives*, **109** (7) : 675-680.
- [61] RUDOLPH A.M. (1985). Distribution and Regulation of Blood Flow in the Fetal and Neonatal Lamb. *Circulation research*, **57** (6) : 811-821.
- [62] SAKAMOTO H., YOKOTA H., KIBE R., SAYAMA Y., YUASA A. (2002). Excretion of bisphenol A-glucuronide into the small intestine and deconjugation in the cecum of the rat. *Biochimica et biophysica acta*, **1573** : 171-176.

[63] SATO A., ENDO C., KYOZUKA M., LIOU S. M., IDOGAWA T., SAITO J., AKAJI K., YAMAGUCHI Y., SUZUKI M. (1985). A method for making chronic fetal preparation in the lamb: results of 4 year's experiences. *Tohoku journal of experimental medicine*, **147** (2) : 157-168.

[64] SCHÖNFELDER G., WITTFOHT WERNER, HOPP H., TALSNESS C.E., PAUL M., CHAHOUD I. (2002). Parent Bisphenol A Accumulation in the Human Maternal–Fetal–Placental Unit. *Environmental Health Perspectives*, **110** : 703-707.

[65] SHIN B.S., KIM C.H., JUN Y.S., KIM D.H., LEE B.M., YOON C.H., PARK E.H., LEE K.C., HAN S.Y., PARK K.L., KIM H.S., YOO S.D. (2004). Physiologically based pharmacokinetics of bisphenol A. *Journal of toxicology and environmental health. Part A*, **67** : 1971-1985.

[66] TAN B.L.L., MOHD M.A. (2003). Analysis of selected pesticides and alkylphenols in human cord blood by gas chromatograph-mass spectrometer. *Talanta*, **61** : 385-391.

[67] TOHMÉ M., PRUD'HOMME S.M., BOULAHTOUF A., SAARUT E., BRUNET F., BERNARD L., BOURGUET W., GIBERT Y., BALAGUER P., LAUDET V. (2014). Estrogen-related receptor γ is an in vivo receptor of bisphenol A. *The FASEB Journal*, **28** (7) : 3124-3133.

[68] VANDENBERG L.N., MAFFINI M.V., SCHAEBERLE C.M., UCCI A.A., SONNENSCHNEIN C., RUBIN B.S., SOTO A.M. (2008). Perinatal exposure to the xenoestrogen bisphenol-A induces mammary intraductal hyperplasias in adult CD-1 mice. *Reproductive toxicology*, **26** : 210-219.

[69] VANDENBERG L.N., GERONA R.R., KANNAN K., TAYLOR J.A., VAN BREEMEN R.B., DICKENSON C.A., LIAO C., YUAN Y., NEWBOLD R.R., PADMANABHAN V., VOM SAAL F.S., WOODRUFF T.J. (2014). A round robin approach to the analysis of bisphenol a (BPA) in human blood samples. *Environmental Health*, **13** (25) : 1-20.

[70] VIGUIE C., COLLET S.H., GAYRARD V., PICARD-HAGEN N., PUEL S., ROQUES B.B., TOUTAIN P.L., LACROIX M.Z. (2013). Maternal and fetal exposure to bisphenol A is associated with alterations of thyroid function in pregnant ewes and their newborn lambs. *Endocrinology*, **154** : 521-528.

[71] VÖLKE W., COLNOT T., CSANADY G.A., FILSER J.G., DEKANT W. (2002). Metabolism and kinetics of bisphenol a in humans at low doses following oral administration. *Chemical research in toxicology*, **15** : 1281-1287.

[72] VÖLKE W., BITTNER N., DEKANT W. (2005). Quantitation of bisphenol A and bisphenol A glucuronide in biological samples by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Drug Metabolism and Disposition*, **33** : 1748-1757.

[73] VOM SAAL F.S., VANDEVOORT C.A., TAYLOR J.A., WELSHONS W.V., TOUTAIN P.L., HUNT P.A. (2014). Bisphenol A (BPA) pharmacokinetics with daily oral bolus or continuous exposure via silastic capsules in pregnant rhesus monkeys: relevance for human exposures. *Reproductive toxicology*, **45** : 105-116.

[74] WHITEHEAD R., GUAN H., ARANY E., CERNEA M., YANG K. (2016). Prenatal exposure to bisphenol A alters mouse fetal pancreatic morphology and islet composition. *Hormone molecular biology and clinical investigation*, **25** (3) : 171-179.

[75] WOODING P., BURTON G. (2008). Synepitheliochorial placentation : ruminants (ewe and cow). In *Comparative placentation. Structures, functions and evolution*. Berlin : Springer, p. 133-167. ISBN 978-3-540-78796-9.

[76] YOKOTA H., IWANO H., ENDO M., KOBAYASHI T., INOUE H., YUASA A. (1999). Glucuronidation of the environmental oestrogen bisphenol A by an isoform of UDP-glucuronosyltransferase, UGT2B1, in the rat liver. *The biochemical journal*, **340** : 405-409.

[77] ZALKO D., SOTO A.M., DOLO L., DORIO C., RATHAHAO E., DEBRAUWER L., FAURE R., CRAVEDI J.P. (2003). Biotransformations of bisphenol A in a mammalian model: answers and new questions raised by low-dose metabolic fate studies in pregnant CD1 mice. *Environmental Health Perspectives*, **111** : 309-319.

[78] ZALKO D., JACQUES C., DUPLAN H., BRUEL S., PERDU E. (2010). Viable skin efficiently absorbs and metabolizes Bisphenol A. *Chemosphere*, **82** (3) : 424-430.

Développement d'un modèle toxicocinétique pour évaluer l'exposition fœtale au bisphénol A et au bisphénol A-glucuronide.

Le bisphénol A (BPA) est un composé très largement utilisé dans l'industrie du plastique. Pourtant, son rôle de perturbateur endocrinien reconnu soulève la question du risque lié à l'exposition prénatale. Dans notre étude toxicocinétique, nous avons utilisé le modèle du fœtus ovin pour évaluer l'exposition fœtale au BPA et à son principal métabolite, le BPA-glucuronide (BPAG). Nous avons ainsi pu montrer que 70 % de la quantité de BPA qui entre dans la circulation fœtale est rapidement éliminée avec une demi-vie très courte (20 minutes) via la clairance placentaire fœto-maternelle, le reste du BPA (30 %) étant glucuronoconjugué par le fœtus. Nous avons également montré que l'hydrolyse du BPAG piégé dans le compartiment fœtal augmente de 43 % l'exposition fœtale au BPA, ce qui signifie que même si le BPAG est inactif par lui-même, il constitue un déterminant de l'exposition fœtale au BPA.

Mots-Clés : toxicocinétique, fœtus, bisphénol A, exposition.

Development of a toxicokinetic model to evaluate fetal exposure of bisphenol A and bisphenol A-glucuronide.

Bisphenol A (BPA) is a compound widely used in the plastics industry. However, its role as a recognized endocrine disruptor raises the question of the risk of prenatal exposure. In our toxicokinetic study, we used the model of the fetal sheep to assess fetal exposure to BPA and its major metabolite, BPA-glucuronide (BPAG). We have shown that 70 % of the amount of BPA entering fetal circulation is rapidly eliminated with a very short half-life (20 minutes) via fetal to maternal placental clearance, the remaining BPA (30 %) being glucuronoconjugated by the fetus. We have also found that BPAG hydrolysis trapped in the fetal compartment increases the fetal BPA exposure by 43 %, which means that even if BPAG is inactive on its own, it is a determinant of fetal BPA.

Keywords : toxicokinetic, fetus, bisphenol A, exposure.