



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's version published in: <http://oatao.univ-toulouse.fr/> 25588

To cite this version:

Bouccara, Léa . *Doit-on remplacer le Bisphénol A par le Bisphénol S ? : évaluation toxicocinétique du Bisphénol S dans l'unité materno-foeto-placentaire*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVV, 2019, 55 p.

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

ANNEE 2019 THESE : 2019 – TOU 3 – 4023

DOIT-ON REMPLACER LE BISPHENOL A PAR LE BISPHENOL S ? EVALUATION TOXICOCINETIQUE DU BISPHENOL S DANS L'UNITE MATERNO-FOETO-PLACENTAIRE

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

par

BOUCCARA Léa

Née, le 04 décembre 1993 à Paris (75)

Directeur de thèse : Mme Nicole HAGEN-PICARD

JURY

PRESIDENT :

Mr Jean PARINAUD

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

Mme Nicole HAGEN-PICARD

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Mme Véronique GAYRARD

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Directrice : **Madame Isabelle CHMITELIN**

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie Vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootechne*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme **HAGEN-PICARD, Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS 2° CLASSE

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*

PROFESSEURS CERTIFIÉS DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAÎTRES DE CONFÉRENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*

- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
 M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
 M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
 M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
 M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
 Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
 Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
 M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*
 M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*

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 **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
 M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
 M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
 Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
 Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et Industrie des aliments*
 Mme **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
 M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophtalmologie vétérinaire et comparée*
 Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
 Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*
 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. **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*
 M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire – Maladies animales règlementées*
 Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

MAITRES DE CONFERENCES CONTRACTUELS

- Mme **BORDE DORE Laura**, *Médecine interne des équidés*
 M. **GIANSETTO Thomas**, *Chirurgie*
 M. **JOLIVET Franck**, *Médecine interne*
 Mme **LECRU Line**, *Dermatologie*
 M. **LEYNAUD Vincent**, *Médecine interne*
 Mme **ROBIN Marie-Claire**, *Ophtalmologie*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mme **BLONDEL Margaux**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
 M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie-Imagerie médicale*
 M. **COMBARROS-GARCIA Daniel**, *Dermatologie vétérinaire*
 M. **GAIDE Nicolas**, *Histologie, Anatomie Pathologique*
 M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
 M. **LESUEUR Jérémy**, *Gestion de la santé des ruminants – Médecine collective de précision*

REMERCIEMENTS

A Monsieur le professeur Jean PARINAUD,

Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse,
Biologie du développement et de la reproduction,

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,
Hommages respectueux.

A Madame le Professeur Nicole HAGEN-PICARD,

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Pathologie de la reproduction,

Qui nous a fait l'honneur de diriger cette thèse,
Pour sa disponibilité et son aide précieuse,
Profonde gratitude.

A Madame le Professeur Véronique GAYRARD,

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie

Qui a aimablement accepté de faire partie de ce jury de thèse.
Sincère reconnaissance.

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS	- 8 -
TABLE DES ILLUSTRATIONS	- 9 -
INTRODUCTION	- 11 -
I. CONTEXTE DE L'ETUDE.....	- 13 -
1. <i>Les perturbateurs endocriniens</i>	<i>- 13 -</i>
2. <i>Le bisphénol A.....</i>	<i>- 13 -</i>
3. <i>La gestation, une période à risque.....</i>	<i>- 14 -</i>
4. <i>Le remplacement du BPA par le BPS.....</i>	<i>- 15 -</i>
II. MATERIELS ET METHODES.....	- 19 -
1. <i>Matériel test</i>	<i>- 19 -</i>
2. <i>Système biologique.....</i>	<i>- 21 -</i>
3. <i>Plan expérimental.....</i>	<i>- 21 -</i>
4. <i>Modalités d'administration et de collecte des échantillons.....</i>	<i>- 23 -</i>
5. <i>Modalités de traitement des échantillons</i>	<i>- 23 -</i>
6. <i>Dosages de BPS et des métabolites</i>	<i>- 24 -</i>
7. <i>Analyse pharmacocinétique.....</i>	<i>- 24 -</i>
III. EVALUATION DES PARAMETRES TOXICOCINETIQUES MATERNO- FCETAUX DU BPS ET DU BPSG	- 29 -
1. <i>Profils de concentrations de BPS et de BPSG dans l'unité materno-foetale</i>	<i>- 29 -</i>
2. <i>Paramètres toxico-cinétiques.....</i>	<i>- 33 -</i>
3. <i>Evaluation de l'accumulation du BPS dans le compartiment foetal</i>	<i>- 38 -</i>
IV. DISCUSSION	- 41 -
CONCLUSION	- 47 -
BIBLIOGRAPHIE.....	- 49 -

LISTE DES ABREVIATIONS

AcN/ZnSO₄ : Acétronitrile/Sulfate de zinc

AUC : Aire sous la courbe

BPA : Bisphénol A

BPAG : Bisphénol A glucuronide

BPS : Bisphénol S

BPS-d₈ : Bisphénol S deutéré

BPSG : Bisphénol S glucuronide

BPSG-d₈ : Bisphénol S glucuronide deutéré

EMA : Agence Européenne des Médicaments

GPE : Gestation et Perturbation Endocrinienne

HPLC/MS-MS : Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrophotométrie de masse en tandem

IV : Intraveineuse

LLOQ : Limite inférieure de quantification

NaCl : Chlorure de sodium

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PE : Perturbateur Endocrinien

TK : Toxicocinétique

UI : Unité Internationale

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figures

- Figure 1 : Diagramme explicatif des principales étapes de l'étude toxicocinétique permettant d'évaluer les mécanismes déterminant la disposition du BPS et de son principal métabolite dans l'unité materno-fœtale..... - 20 -
- Figure 2 : Représentation schématique du protocole expérimental décrivant la toxicocinétique du BPS et du BPSG lors de la première période, au cours de laquelle une dose de BPS-G de 2,8 mg/kg a été administrée par voie intraveineuse à la mère et une dose de 2 mg/kg de BPS-d8 au fœtus. La décroissance temporelle des concentrations de BPS, BPS-d8, BPSG et BPSG-d8 a été évaluée dans les compartiments maternels et fœtaux..... - 22 -
- Figure 3 : Représentation schématique du protocole expérimental décrivant la toxicocinétique du BPS et du BPSG lors de la seconde période, au cours de laquelle une dose de 5 mg/kg de BPS a été administrée par voie intraveineuse à la mère et de 7 mg/kg de BPSG-d8 au fœtus. La décroissance temporelle des concentrations de BPS, BPS-d8, BPSG et BPSG-d8 a été évaluée dans les compartiments maternels et fœtaux..... - 22 -
- Figure 4 : Schéma explicatif d'un calcul d'une aire sous la courbe par la méthode des trapèzes. - 27 -
- Figure 5 : Concentrations plasmatiques du BPS et BPSG chez la brebis et le fœtus en fonction du temps après administration IV de BPSG à la mère à la dose de 2,7mg/kg. - 30 -
- Figure 6 : Concentrations plasmatiques du BPS-d8 et BPSG-d8 chez la brebis et le fœtus en fonction du temps, après administration IV de BPS-d8 au fœtus à la dose de 2 mg. ... - 31 -
- Figure 7: Concentrations plasmatiques du BPS et BPSG (ng/mL) chez la mère et le fœtus en fonction du temps, après administration de BPS à la mère à la dose de 5mg/kg..... - 32 -
- Figure 8 : Concentrations plasmatiques du BPS-d8 et BPSG-d8 (ng/mL) chez le fœtus en fonction du temps, après administration IV de BPSG-d8 au fœtus (7 mg/kg). - 33 -
- Figure 9 : Concentrations moyennes en BPS et BPSG (échelle logarithmique) chez la mère et le fœtus après perfusion IV de 75mg/kg de BPS à la mère à 2,3 mL/h sur 24 heures. - 38 -
- Figure 10 : Concentrations moyennes en BPS et BPSG (échelle logarithmique) chez la mère et le fœtus en fonction du temps, lors d'administrations répétées de bolus BPS IV à 5mg/kg à la mère..... - 39 -
- Figure 11 : Représentation schématique de la disposition du BPS et du BPSG dans les compartiments maternel et fœtal : les taux de transfert materno-foetaux du BPS et BPSG ainsi que les taux de conjugaison et d'hydrolyse, chez la mère et chez le fœtus sont indiqués. - 44 -
- Figure 12: Représentation schématique de la disposition du BPA et du BPAG dans les compartiments maternel et fœtal : les taux de transfert materno-foetaux du BPA et BPAG ainsi que les taux de conjugaison et d'hydrolyse, chez la mère et chez le fœtus sont indiqués (Gauderat et al., 2016). - 44 -

Tableaux

Tableau 1 : Masses molaires du BPS, BPSG, BPS-d8 et BPSG-d8 en g/mol.	- 27 -
Tableau 2 : Causes d'exclusion des animaux pour les deux périodes de l'étude.	- 27 -
Tableau 3 : Clairances plasmatiques individuelles et moyennes (\pm écart-type) du BPS et BPSG chez la mère et le fœtus ovin, calculées sur une période de 72 heures.	- 33 -
Tableau 4 : Taux de conjugaison du BPS en BPSG, individuels et moyens calculés sur une période de 72 heures, dans le compartiment maternel et fœtal sur le modèle ovin.	- 34 -
Tableau 5 : Taux d'hydrolyse du BPSG en BPS, individuels et moyens, calculés sur une période de 72 heures, dans le compartiment maternel et fœtal sur le modèle ovin.	- 35 -
Tableau 6 : Taux de transferts materno-fœtaux et foeto-maternels individuels et moyens du BPS et BPSG, calculés sur une période de 72, dans le compartiment maternel et fœtal sur le modèle ovin.	- 36 -
Tableau 7: Ratios d'accumulation individuels et moyen du BPS chez le fœtus après administration de BPS à la mère, sous forme de perfusion IV à la dose de 75mg/kg au débit de 2,3mL/h sur 24 heures suivi de 7 bolus IV à 5mg/kg/h toutes les 24 heures. -	- 40 -
Tableau 8: Clairances plasmatiques du BPS et du BPSG maternelles et fœtales déterminées sur une brebis gravide.	- 45 -
Tableau 9 : Clairances plasmatiques du BPA et du BPAG maternelles et fœtales déterminée sur le modèle de la brebis gravide (Gauderat et al, 2016).	- 45 -

INTRODUCTION

En raison du risque lié à l'exposition humaine au bisphénol A (BPA), des mesures réglementaires ont été prises, impliquant un remplacement de la molécule par des analogues structuraux tels que le bisphénol S (BPS). Ce dernier est aujourd'hui omniprésent dans l'environnement. Il est, en effet, de plus en plus utilisé comme intermédiaire pour la production de plastiques polycarbonates et de résines époxy dans des produits de consommation, notamment les boîtes de conserve, les papiers thermiques et les produits d'hygiène personnelle, du fait de son importante stabilité thermique (Wu et al., 2018). Comme pour le BPA, l'Homme est exposé au BPS principalement par ingestion, mais aussi par inhalation et par voie transcutanée (Wu et al., 2018).

En raison de l'analogie structurale du BPS avec le BPA et de sa large utilisation, les préoccupations relatives à la sécurité du BPS sont devenues un enjeu majeur. Certaines études *in vitro* et *in vivo*, bien que limitées, suggèrent en effet que le BPS pourrait avoir un potentiel perturbateur endocrinien similaire à celui du BPA (Eladak et al., 2015; Goldinger et al., 2015; Rochester et Bolden, 2015; Roelofs et al., 2015; Rosenmai et al., 2014). En outre, des études toxicologiques récentes réalisées chez des rongeurs et sur le modèle de la brebis gravide ont démontré qu'une exposition au BPS pendant le développement fœtal pouvait perturber les paramètres de la reproduction, du métabolisme et du développement, indiquant la vulnérabilité de la période de gestation à l'exposition à ce xénobiotique (Molina-Molina et al. 2013, Ahmed, Atlas 2016, Boucher et al. 2016).

Dans ce contexte, l'étude de la disposition du BPS et de son principal métabolite, le BPS glucuronide, dans l'unité materno-foeto-placentaire est indispensable pour contribuer à évaluer le risque, pour la santé humaine, lié à l'exposition au BPS ainsi que pour déterminer si le BPS est une alternative acceptable au BPA. Le modèle du fœtus ovin instrumenté est de plus un modèle pertinent et fréquemment utilisé pour caractériser la disposition des médicaments dans l'unité materno-foeto-placentaire.

Les objectifs de cette étude étaient donc d'estimer les paramètres TK du BPS et du BPSG dans l'unité materno-foeto-placentaire ovine afin d'évaluer les mécanismes de l'exposition fœtale au BPS et de les comparer à ceux qui contrôlent l'exposition fœtale au BPA.

Les particularités de la TK fœtale du BPS et du BPSG dont la persistance du BPSG associée à sa réactivation en BPS dans le compartiment fœtal nous ont ensuite conduits à étudier l'accumulation de BPS dans ce compartiment.

Après une introduction présentant le contexte de l'étude sur l'exposition aux Bisphénols pendant la période à risque de la gestation, l'étude expérimentale sera présentée puis les résultats de l'étude seront discutés.

I. CONTEXTE DE L'ETUDE

1. Les perturbateurs endocriniens

Depuis ces dernières décennies, la notion de perturbateurs endocriniens (PE) est au centre des débats scientifiques, politiques et publics. En effet, compte tenu de l'augmentation de la production mondiale de substances chimiques depuis les années 1930 et de l'augmentation de la prévalence de désordres endocriniens, un lien a été suggéré entre l'exposition à des substances chimiques et l'incidence de certains troubles endocriniens. Actuellement, la définition de perturbateur endocrinien communément admise est celle de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). D'après cette définition, un perturbateur endocrinien est « une substance ou un mélange de substances exogènes altérant les fonctions du système endocrinien et induisant donc des effets nocifs sur la santé d'un organisme intact, de ses descendants ou de (sous-)populations ». Pour qu'une substance soit qualifiée de PE, il faut démontrer qu'elle exerce un effet néfaste, qu'elle modifie une fonction endocrine et qu'il existe une relation entre le mode d'action endocrinien et l'effet adverse. En réalité, le lien de cause à effet entre l'effet avéré et le mécanisme endocrinien est souvent difficile à démontrer et de ce fait, cette définition exclut un grand nombre de substances.

2. Le bisphénol A

Le bisphénol A (BPA) est une molécule utilisée par l'industrie plasturgique et a été classée comme perturbateur endocrinien pour l'Homme du fait de ses propriétés œstrogénomimétiques (ECHA, 2017). L'homme adulte est principalement exposé au bisphénol A (BPA) par voie alimentaire. Ce dernier est bien absorbé et rapidement métabolisé en BPA glucuronide (BPAG) par effet de premier passage hépatique, puis complètement éliminé dans les urines (Völkel et al. 2002). L'homme adulte est ainsi essentiellement exposé au BPAG. Cependant, bien que le BPA soit classé Perturbateur Endocrinien en raison de ses effets reprotoxiques pour l'Homme, le BPAG semble quant à lui incapable de se lier aux récepteurs aux œstrogènes et serait donc dépourvu d'activité œstrogénique (ECHA, 2017). L'exposition de l'Homme au BPAG est ainsi jugée peu préoccupante et l'exposition systémique aux métabolites conjugués des bisphénols n'est pas prise en compte dans l'évaluation des risques (Matthews et al. 2001, Skledar et al. 2016). Toutefois, plusieurs études *in vitro* ont mis en évidence une activité biologique non négligeable du BPAG (Boucher et al. 2015, Viñas et al. 2013). En effet, bien qu'il ne puisse être exclu qu'une possible reconversion du BPAG à sa

forme non conjuguée puisse expliquer son effet sur la différenciation des adipocytes (Gayraud et al. 2015), l'effet du BPAG a été démontré sur certaines voies de signalisation oestrogénique (Viñas et al. 2013).

3. La gestation, une période à risque

L'exposition du fœtus humain au BPA est un sujet majeur de préoccupation en toxicologie. En effet, une exposition du fœtus à des xénobiotiques même à bas bruit au cours des périodes critiques du développement est fortement suspectée d'être impliquée dans l'initiation d'effets biologiques exprimés de façon différée chez l'adulte. En outre, sa vulnérabilité aux perturbateurs endocriniens est exacerbée par sa capacité limitée d'élimination des xénobiotiques. Les études de Gerona et al. et Zhang et al. en 2013 ainsi que celle de Yamamoto et al. en 2016 ont mis en évidence la présence de BPA dans le sang du cordon ombilical à des concentrations variables (<0.1ng/ml, jusqu'à 52 ng/ml). Les valeurs élevées de ces concentrations ont été attribuées à des contaminations des échantillons par le BPA omniprésent dans l'environnement et ne sont pas prises en compte dans l'évaluation du risque (Teeguarden et al. 2016).

L'exposition fœtale aux xénobiotiques dépend de plusieurs facteurs : le métabolisme maternel, le transfert placentaire materno-fœtal et foeto-maternel, le métabolisme fœtal et la recirculation du contaminant entre la circulation fœtale et le liquide amniotique. Ainsi, seul un modèle intégratif permet de prendre en compte tous ces facteurs physiologiques simultanément. L'équipe GPE (Gestation et Perturbation Endocrinienne, TOXALIM) a développé le modèle du fœtus ovin instrumenté au cours du dernier tiers de la gestation, qui permet de réaliser simultanément des administrations fœtales et des prélèvements sériés de sang fœtal, afin d'évaluer le niveau des concentrations plasmatiques fœtales en BPA associé à une exposition maternelle. Ce modèle animal est pertinent vis à vis de l'homme en termes de physiologie fœtale. Les travaux réalisés sur ce modèle ont ainsi montré que le fœtus reçoit une dose de BPA qui, rapportée à son poids, est équivalente à la dose administrée à la mère et que les activités métaboliques fœtales conduisent à la production de BPAG qui s'accumule dans le compartiment fœtal en raison de son incapacité à franchir la barrière placentaire (Corbel et al. 2013).

Par ailleurs, la lente élimination du BPAG depuis le compartiment fœtal résulte de son hydrolyse totale en BPA, c'est-à-dire de sa réactivation en BPA (Gauderat et al. 2016). Ce résultat suggère que l'exposition fœtale au BPAG pourrait induire des effets équivalents à

ceux d'une exposition au BPA et indique qu'il est important de considérer l'exposition à ce métabolite dans les investigations toxicologiques.

4. Le remplacement du BPA par le BPS

En France, l'utilisation du BPA dans l'ensemble des contenants alimentaires a été interdite depuis 2015 (Loi 2012-1442 du 24 décembre 2012). Ainsi, le BPA a été remplacé pour ses différentes applications par plusieurs analogues structuraux, notamment le Bisphénol S (BPS). Le BPS se trouve donc actuellement dans une grande variété de produits de consommation courante (Mallozzi et al. 2016). Ce composé n'étant pas encore réglementé, il n'est soumis à aucune obligation de déclaration par les industriels. Ainsi, ce substitut présente pour ces derniers plusieurs avantages, il échappe à l'interdiction légale sur le bisphénol A et permet aux produits contenant du bisphénol S d'être étiquetés « sans BPA ».

Cependant, d'après l'étude de Wu et al en 2018, le BPS est maintenant omniprésent dans l'environnement, et ce dans le monde entier. On le retrouve notamment dans les eaux fluviales et de surface, les sédiments marins, les poussières et les particules d'intérieur, l'air etc...., à des concentrations actuellement inférieures à celles du BPA, mais en constante augmentation. De plus, la présence du groupe sulfone et des deux hydroxyles rendent le BPS plus stable que le BPA. Ce dernier est donc dégradé plus lentement dans l'environnement (Danzl et al. 2009).

L'Homme peut être exposé au BPS par inhalation, ingestion, ou encore par voie transdermique. Cette dernière voie revêt une importance particulière, le BPS étant largement utilisé comme révélateur de couleur, présent dans les tickets de caisse, billets d'avion, reçus etc...., soumis à des contacts cutanés fréquents chez l'homme. L'étude de Liao (Liao et al., 2012a et 2012c) montre par exemple une surexposition au BPS des personnes travaillant en caisse ou manipulant fréquemment du papier thermosensible par rapport à la population générale. Cependant, tout comme pour le BPA, la voie principale d'exposition est l'alimentation. Le BPS est en effet présent dans les résines époxy utilisées comme revêtement intérieur des boîtes de conserves et canettes notamment, et peut donc contaminer l'aliment, dans certaines conditions de température et de pH. Les études de Liao et Kannan en 2013 et 2014 ont d'ailleurs montré une concentration en bisphénols (tous les analogues confondus) plus importante dans les aliments en conserve que dans ceux dont le contenant est en verre, papier ou plastique.

D'autre part, plusieurs études ont permis de mettre en évidence la présence de BPS total dans des échantillons d'urine (détecté dans 81% des échantillons, à des concentrations moyennes de 0,168ng/mL, Liao et al., 2012b), (Ye et al. 2015, Philips et al. 2018), mais également dans du sang de cordon ombilical (Kolatorova et al. 2018), démontrant l'absorption de la molécule et le transfert placentaire chez l'homme. La dose interne de BPS a ainsi pu être estimée à 4 ng/(kg.j) en moyenne (Liao et al. 2012b).

Enfin, comme pour le BPA, la voie métabolique prédominante du BPS est la glucuronidation et donc la formation de BPS glucuronide (BPSG) (Skledar et al. en 2016).

En définitive, l'exposition de l'Homme au BPS est en constante augmentation. La dose interne de BPS total est de plus similaire à celle observée pour le BPA (1,34 ng/(kg.j)) et atteint quelques ng/jour (ANSES, 2013).

Même si le BPS a été beaucoup moins étudié que le BPA, quelques études ont montré sa capacité à interagir avec les récepteurs aux œstrogènes et à exercer des effets.

Ainsi, l'étude de Molina-Molina et al. en 2013 a montré la capacité du bisphénol S à se lier aux récepteurs aux œstrogènes, à l'origine d'une activité oestrogénomimétique et anti-androgénique de ce dernier (Rochester, Bolden 2015, Chen et al. 2016). L'affinité du BPS pour ces récepteurs est toutefois inférieure à celle du BPA (Kojima et al., 2018). Sur des cellules humaines d'adénocarcinomes ovariens, une activité oestrogénique du BPS moins puissante que celle du BPA a été mise en évidence (Rosenmai et al., 2014). Cette activité est similaire à celle du BPA dans les cellules MCF-7 de lignée du cancer du sein chez l'Homme (Kuruto-Niwa et al. 2005). L'étude de Viñas et Watson (2013) a mis en évidence une activation des voies de signalisation non génomique par le BPS dans les cellules hypophysaires, similaire à celle induite par le BPA, et ce à des concentrations de l'ordre micromolaire et même du picomolaire. Des effets du BPS sur le stockage des lipides ainsi que sur l'expression de marqueurs adipogènes dans les préadipocytes humains et murins, semblables voire supérieurs à ceux du BPA, ont également été démontrés (Boucher et al. 2014, 2016, Ahmed, Atlas, 2016).

Le Bisphénol S peut également modifier les voies de synthèse des androgènes ainsi que la spermatogénèse. L'étude de Roelofs et al. (2015) sur un modèle de cellules de Leydig murines, a en effet montré que le BPS induit des altérations de la stéroïdogénèse. Ce dernier provoque également un stress oxydatif dans les cellules testiculaires murines, associé à une altération de la spermatogénèse (Ullah et al. 2016).

Par ailleurs, sur un modèle ex vivo de testicule fœtal humain, Eladak et al. ont montré en 2015 que, comme pour le BPA, une exposition à 10nmol/L de BPS entraîne une diminution de la sécrétion de testostérone. Sur le modèle invertébré du nématode *Caenorhabditis elegans*, le BPS, comme le BPA, affecte les cellules germinatives en modifiant les mécanismes de réparation de l'ADN double brin (Mersha et al., 2015).

Bien que limitées en nombre, des études in vivo ont aussi révélé des effets similaires du BPS et du BPA. L'étude de Ullah et al. en 2018 a ainsi montré une diminution de la quantité de protéines ainsi que de la concentration en testostérone dans les testicules, associées à un amincissement de l'épithélium des tubules séminifères après exposition subchronique au BPA ou BPS par voie orale à la dose de 50mg/kg chez des rats mâles adultes. De même, une puberté retardée, une cyclicité perturbée ou encore un défaut de développement et de fonctionnement ovarien, ont été observés chez des rates exposées au BPA ou au BPS par voie sous-cutanée (5 et 50mg/kg) au cours de la période néonatale (Ahsan et al. 2018). L'étude de Tucker et al. en 2018 a également montré un développement plus rapide des glandes mammaires, ainsi qu'une incidence plus élevée de lésions mammaires chez des souris exposées in utero au BPA ou au BPS. Enfin, une modification du comportement maternel chez des rates exposées au BPS pendant la gestation et la lactation a été mise en évidence (Catanese et Vandenberg, 2017).

Le BPS semble donc présenter un potentiel perturbateur endocrinien similaire au BPA, ce qui pose le problème de son utilisation en remplacement du BPA. De plus, le fait que les métabolites glucuronides ne puissent pas être considérés comme totalement inactifs soulève la question de l'exposition fœtale à la molécule parente mais également aux métabolites conjugués.

Le but de cette étude a donc été d'évaluer l'exposition du fœtus au BPS lors d'expositions maternelles environnementales. Pour caractériser les expositions internes maternelles et fœtales au BPS et à son principal métabolite, le BPSG, le modèle physiologique et intégratif ovin a été utilisé. En effet, grâce à la mise en place et au maintien de cathéters dans les vaisseaux sanguins de la mère et du fœtus, le fœtus ovin instrumenté fournit un modèle unique permettant à la fois des administrations IV mais également des prélèvements sanguins maternels et fœtaux. De plus, la plupart des molécules dont le poids moléculaire est inférieur à 600 Da traversent le placenta par un mécanisme de diffusion passive, dépendant de leurs

propriétés physicochimiques, mais aussi des débits sanguins maternels et fœtaux (Rurak et al., 1991). Or, par rapport au poids corporel du fœtus, la circulation sanguine dans la veine et l'artère ombilicale est du même ordre de grandeur chez le mouton (12 l/h.kg, Faber et al. 1973, Rudolph 1985) et chez l'homme (7 L/kg.h (Clavero et al. 1973, Haugen et al. 2004)), indiquant un transfert passif des molécules à travers le placenta comparable chez les deux espèces. Ce modèle animal a donc permis d'évaluer la disposition de plusieurs molécules pendant la période prénatale (Kumar et al. 1997, Ngamprasertwong et al. 2016).

Dans notre cas, le modèle prend en compte l'ensemble des facteurs déterminant l'exposition fœtale, à savoir l'exposition interne maternelle, le transfert placentaire, la liaison du BPS aux protéines plasmatiques, le métabolisme dans l'unité fœto-placentaire et la recirculation du BPS et/ou de ses métabolites entre le liquide amniotique et la circulation fœtale. Nous avons ainsi pu caractériser les échanges materno-fœtaux et étudier la pharmacocinétique maternelle et fœtale du BPS et du BPSG sur ce modèle ovin, lors du dernier tiers de gestation.

II. MATÉRIELS ET MÉTHODES

Le modèle du fœtus ovin instrumenté a été utilisé pour étudier la disposition du BPS et du BPSG dans l'unité foeto-materno-placentaire. Ainsi, dans un premier temps, huit couples brebis-fœtus ont été instrumentés afin de suivre le décours temporel des concentrations de BPS et de BPSG dans les compartiments maternel et fœtal après administrations des molécules à la mère et au fœtus. Dans un second temps, des administrations répétées de BPS ont été réalisées sur trois brebis gravides afin d'évaluer l'accumulation du BPS dans le compartiment fœtal (Figure 1). Les expériences animales ont été réalisées dans le respect du bien-être animal et le protocole a reçu un agrément N° 31-2011-142 du ministère de l'Agriculture.

1. Matériel test

Tous les matériaux utilisés pour la préparation des solutions, y compris ceux utilisés pour les échantillons et les analyses, étaient en verre ou en plastique sans Bisphenol. Le BPS (pureté >98%) a été fourni par Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France). Le BPS-d8 et BPSG-d8 provenaient de TRC (Toronto, Canada). Le BPS et le BPS-d8 ont été dissous de manière extemporanée dans un solvant éthanol/eau ultrapure/ propylène glycol (10/11/79 VOL/VOL/VOL) aux concentrations de 50 et 5mg/ml respectivement.

Le BPSG (glucuronide) a été purifié préalablement à partir d'urines de brebis ayant reçu du BPS à la dose de 100 mg/kg par voie orale. Ces fractions contiennent une faible contamination en BPS (max 4,4%). Le BPSG et BPSG-d8 ont été dissous de manière extemporanée dans 0,9% de NaCl tampon aux concentrations de 50 à 10mg/ml respectivement. L'utilisation de BPS et de BPSG marqués au deutérium a permis d'administrer simultanément les deux molécules et de suivre leurs cinétiques à la fois dans les compartiments maternel et fœtal.

Pour les administrations maternelles, les volumes de solutions de BPS et BPSG ont été ajustés aux poids des brebis mesurés dans les 3 jours avant l'administration. Pour les administrations fœtales, le poids des fœtus a été fixé arbitrairement à 2,5kg (Bazer et al., 2012).

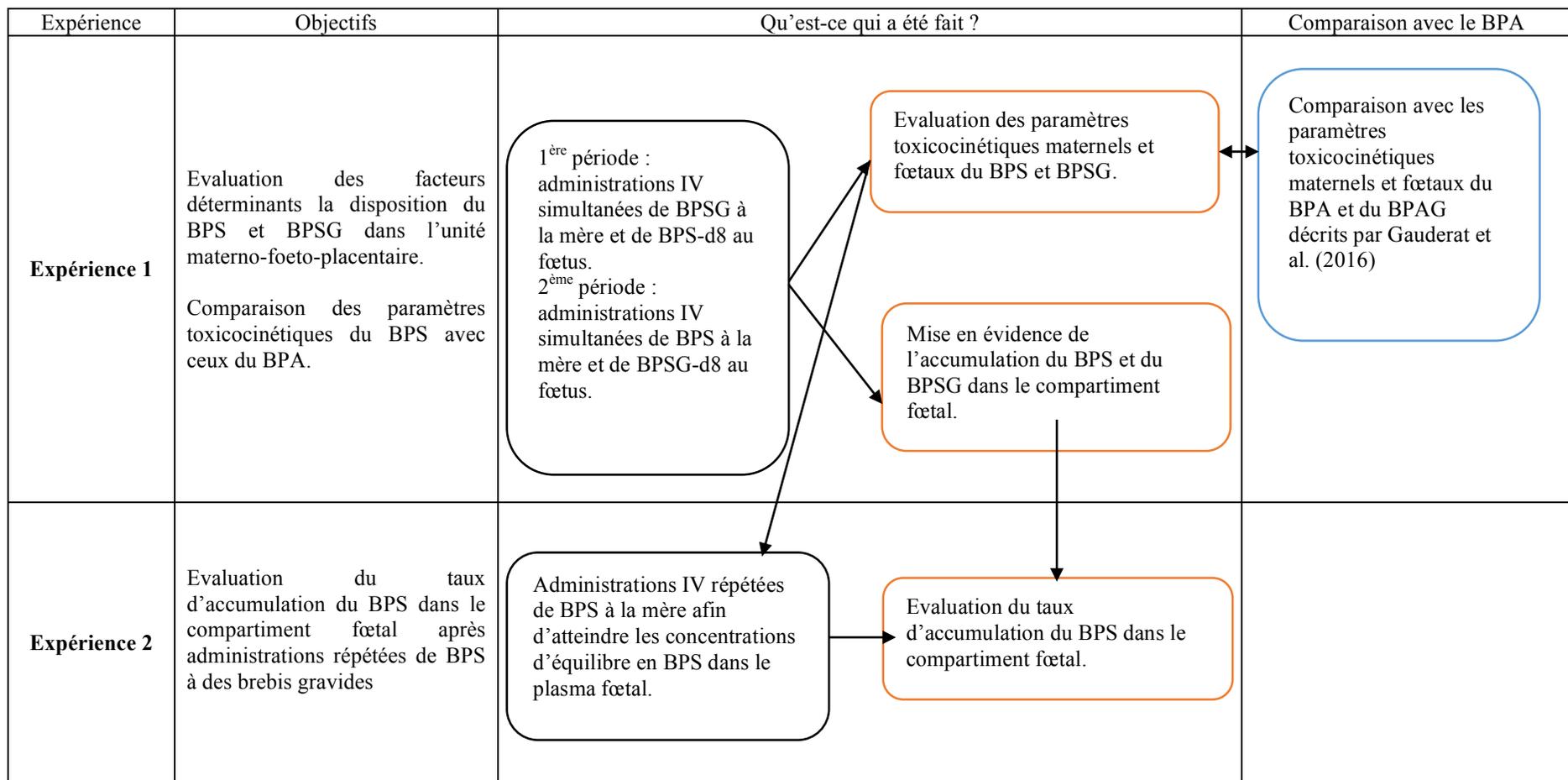


Figure 1 : Diagramme explicatif des principales étapes de l'étude toxicocinétique permettant d'évaluer les mécanismes déterminant la disposition du BPS et de son principal métabolite dans l'unité materno-fœtale.

2. Système biologique

Cette étude a été réalisée sur 8 brebis gravides de race Lacaune viande, avec un poids moyen de 79 ± 15 kg pour la première expérience, et sur 3 brebis gravides de race Lacaune viande, avec un poids moyen de 79 ± 15 kg, pour la seconde expérience. Tous les animaux ont reçu du granulé distribué deux fois par jour et du foin et de l'eau à volonté.

Les fœtus ovins ont été instrumentés entre 109 et 113 jours de gestation avec deux cathéters mis à demeure dans la veine jugulaire et l'artère carotidienne pour permettre la réalisation d'administrations IV et des prélèvements de sang respectivement, selon la technique décrite par Corbel et al. (2013). Les expériences ont débuté plus de 3 jours après la chirurgie.

3. Plan expérimental

• **Expérience 1** : Evaluation des paramètres toxicocinétiques materno-fœtaux du BPS et BPSG.

L'expérience a comporté deux périodes séparées de 3 jours. Au cours de la première période, les paramètres toxicocinétiques du BPS et du BPSG ont été évalués suite à une administration fœtale IV de BPS deutéré (BPS-d8) sous forme de bolus à la dose de 2 mg/kg et d'une administration maternelle IV de BPSG à la dose de 2,7 mg/kg (Figure 2). Ces doses ont été choisies afin de suivre la cinétique de décroissance du BPS et du BPSG sur plusieurs heures, compte tenues des limites de quantification des méthodes analytiques (Grandin et al. 2018).

Au cours de la deuxième période, les paramètres pharmacocinétiques du BPS et du BPSG ont été évalués suite à une administration fœtale IV de BPSG deutéré (BPS-d8) sous forme de bolus à la dose de 7 mg/kg et d'une administration maternelle IV de BPS à la dose de 5 mg/kg (Figure 3).

Pour chacune des deux périodes, des prélèvements de sang maternel et fœtal ont été réalisés avant chaque administration et aux temps 7 min, 15min, 30min, 1h, 2h, 4h, 6h, 8h, 10h, 24h, 34h, 48h, 58h et 72h après les administrations.

Ce modèle permet de suivre les décroissances temporelles des concentrations plasmatiques de BPS et de BPSG natifs ou marqués au deutérium dans les compartiments maternel et fœtal afin de déterminer les paramètres toxicocinétiques du BPS et de son principal métabolite.

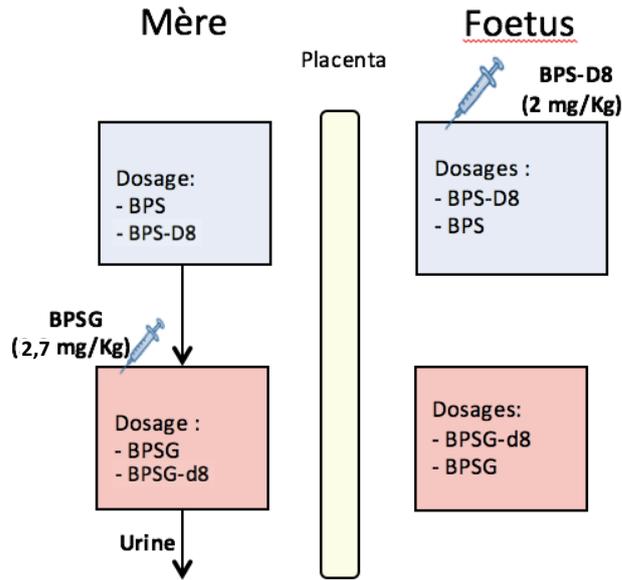


Figure 2 : Représentation schématique du protocole expérimental décrivant la pharmacocinétique du BPS et du BPSG lors de la première période, au cours de laquelle une dose de BPS-G de 2,8 mg/kg a été administrée par voie intraveineuse à la mère et une dose de 2 mg/kg de BPS-d8 au fœtus. La décroissance temporelle des concentrations de BPS, BPS-d8, BPSG et BPSG-d8 a été évaluée dans les compartiments maternels et fœtaux.

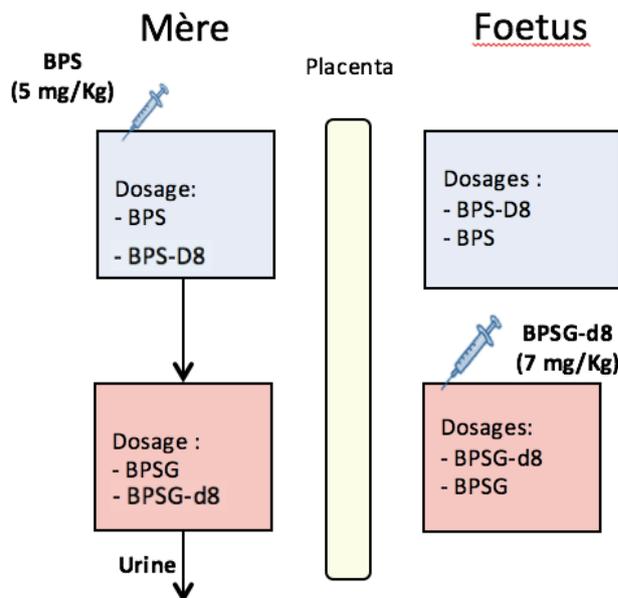


Figure 3 : Représentation schématique du protocole expérimental décrivant la pharmacocinétique du BPS et du BPS-G lors de la seconde période, au cours de laquelle une dose de 5 mg/kg de BPS a été administrée par voie intraveineuse à la mère et de 7 mg/kg de BPSG-d8 au fœtus. La décroissance temporelle des concentrations de BPS, BPS-d8, BPSG et BPSG-d8 a été évaluée dans les compartiments maternels et fœtaux.

• **Expérience 2** : Administrations répétées de BPS aux brebis gravides.

Cette expérience avait pour but d'évaluer le taux d'accumulation du BPS dans le compartiment fœtal après des administrations répétées de BPS à la mère. Ainsi, chaque brebis a d'abord reçu une dose de charge de 75mg/kg IV de BPS sous forme de perfusion d'une durée de 24 heures, à un débit de 2,3mL/h. Un bolus IV de BPS à 5mg/kg (dose d'entretien) a ensuite été administré quotidiennement pendant 7 jours.

Des prélèvements de sang maternel et fœtal ont été réalisés avant chaque administration et aux temps 5 min, 15min, 30min, 1h, 2h, 3h, 4h, 6h, 8h et 10h après la mise en place de la perfusion, ainsi que toutes les 15 minutes pendant la dernière heure de perfusion de BPS, et ce afin de déterminer les concentrations à l'état d'équilibre.

Des prélèvements ont également été réalisés avant chaque bolus de BPS ainsi qu'aux temps 5 min, 15 min, 30 min, 1h, 2h, 3h, 4h, 6h, 8h, 10h et 24 heures après le dernier bolus.

4. Modalités d'administration et de collecte des échantillons

Les administrations IV fœtales ont été réalisées directement via le cathéter mis en place au niveau de 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 l'administration. Les prélèvements sanguins fœtaux d'un volume de 0.7mL ont été réalisés via le cathéter mis à demeure au niveau de l'artère carotidienne des fœtus. Les prélèvements sanguins maternels (3mL) ont été réalisés par ponction directe de la jugulaire droite.

5. Modalités de traitement des échantillons

Le sang fœtal a été recueilli dans des tubes en polypropylène de 1.5mL héparinés avec 10 UI (Héparine CHOAY). Le sang maternel a été recueilli dans des tubes en polypropylène héparinés de 5 ml. Les échantillons de sang ont été conservés dans la glace entre le moment du prélèvement et la centrifugation réalisée au cours de l'heure suivant le prélèvement. Les échantillons ont été centrifugés à 3000 g pendant 10 minutes à 4°C. Le plasma a été séparé et réparti en deux fractions aliquotes, conservées à -20°C jusqu'au dosage.

6. Dosages de BPS et des métabolites

Les concentrations de BPS, BPS-d8, BPSG et BPSG-d8 dans les échantillons sanguins ont été déterminées par HPLC/MS-MS comprenant une extraction en phase solide puis une chromatographie liquide couplée à de la spectrométrie de masse (Xevo®, Waters, Milford, MA, USA) selon une méthode validée selon les directives de l'Agence Européenne du Médicament (EMA, 2018) : la sélectivité a été testée en comparant six chromatogrammes plasmatiques témoins avec des chromatogrammes aux limites inférieures de quantification (LLOQ). Les LLOQ ont été définies comme les concentrations les plus faibles de la courbe d'étalonnage qui pouvaient être quantifiées avec moins de 20 % de précision et dans une plage de précision de 80 à 120 %. Elles ont été validées à 3 ng/mL pour le BPS, 1 ng/mL pour le BPS-d8 et 10 ng/mL pour le BPSG et BPSG-d8, dans le plasma. Les coefficients de variation intra et inter dosage ont été systématiquement inférieurs à 8% pour le BPS et 15% pour le BPSG et l'exactitude variait de 100 à 113 % pour le BPS et de 96 à 105 % pour le BPSG.

Brièvement, les échantillons de plasma ou de liquide amniotique (100µl) ont été dilués avec 100µl d'AcN/ZnSO₄ (1/1, vol/vol) contenant du BPS-d4 standard (100ng/ml) et séparés sur une colonne C18. La spectrophotométrie de masse a été utilisée en mode réactions multiples afin de suivre les quantités de BPS, BPS-d8, BPSG et BPSG-D8, selon les transitions suivantes, respectivement : 249 > 108, 257 > 112, 425 > 249, 433 > 257, avec une énergie de collision de 26eV pour le BPS et 28eV pour les trois autres substances.

Les données de chromatographie ont été extraites par le logiciel TargetLynx® (Waters, Milford, MA, USA).

7. Analyse pharmacocinétique

- Expérience 1 : évaluation des paramètres toxicocinétiques materno-fœtaux du BPS et BPSG.

A partir des courbes de concentrations plasmatiques du BPS et du BPSG en fonction du temps, nous avons pu estimer les paramètres pharmacocinétiques du BPS et de son principal métabolite, le BPS glucuronide.

Les clairances maternelle et fœtale du BPS et du BPSG ont été calculées en utilisant l'équation suivante : *Equation 1* : $Cl = \frac{dose}{AUC}$

L'AUC est l'aire sous la courbe des concentrations. Elle est calculée en utilisant la méthode des trapèzes linéaires (figure 4).

Les taux de transfert du BPS et du BPSG entre les compartiments maternel et fœtal, les taux de conjugaison et d'hydrolyse des molécules sur une période de 72 heures ont également été calculés selon les équations 2 à 8, explicitées ci-dessous.

• **Equation 2 :**

$$\text{Conjugaison}_{BPS (m\grave{e}re)}(\%) = \frac{(Cl (BPSG,m\grave{e}re) \times AUC (BPS \rightarrow BPSG,m\grave{e}re) / M (BPSG))}{Dose BPS administr\acute{e}e (m\grave{e}re) / M (BPS)} \times 100$$

Avec AUC (BPS → BPSG, mère) l'aire sous la courbe des concentrations plasmatiques en BPSG en fonction du temps, chez la mère, après administration de BPS à cette dernière ((ng/mL)*min) et Cl (BPSG, mère) la clairance maternelle du BPSG (mL/(kg*min)). M(BPSG) et M(BPS) sont les masses molaires du BPSG et du BPS (g/mol).

• **Equation 3 :**

$$\text{Conjugaison}_{BPS.d8 (foetus)}(\%) = \frac{(Cl (BPSG.8,foetus) \times AUC (BPS.d8 \rightarrow BPSG.d8,foetus) / M (BPSG.d8))}{Dose BPS.d8 administr\acute{e}e (foetus) / M (BPS.d8)} \times 100$$

Avec AUC (BPS.d8 → BPSG.d8, foetus) l'aire sous la courbe des concentrations plasmatiques en BPSG-d8 en fonction du temps, chez le fœtus, après administration de BPS-d8 à ce dernier ((ng/mL)*min) et Cl (BPSG.8, foetus) la clairance fœtale du BPSG-d8 (mL/(kg*min)). M(BPSG-d8) et M(BPS-d8) sont les masses molaires du BPSG-d8 et du BPS-d8 (g/mol).

• **Equation 4 :**

$$\text{Hydrolyse}_{BPSG (m\grave{e}re)}(\%) = \frac{(Cl (BPS,m\grave{e}re) \times AUC (BPSG \rightarrow BPS,m\grave{e}re) / M (BPS))}{Dose BPSG administr\acute{e}e (m\grave{e}re) / M (BPSG)} \times 100$$

Avec AUC (BPSG → BPS, mère) l'aire sous la courbe des concentrations plasmatiques en BPS en fonction du temps, chez la mère, après administration de BPSG à ce dernière ((ng/mL)*min) et Cl (BPS, mère) la clairance maternelle du BPS (mL/(kg*min)).

• **Equation 5 :**

$$\text{Hydrolyse}_{BPSG.d8 (foetus)}(\%) = \frac{(Cl (BPS.d8,foetus) \times AUC (BPSG.d8 \rightarrow BPS.d8,foetus) / M (BPS.d8))}{Dose BPSG.d8 administr\acute{e}e (foetus) / M (BPSG.d8)} \times 100$$

Avec $AUC (BPSG.d8 \rightarrow BPS.d8, foetus)$ l'aire sous la courbe des concentrations plasmatiques en BPS-d8 en fonction du temps, chez le fœtus, après administration de BPSG-d8 à ce dernier ((ng/mL)*min) et $Cl (BPS.d8, foetus)$ la clairance fœtale du BPS-d8 (mL/(kg*min)).

• **Equation 6 :**

$$Transfert_{BPS(mère \rightarrow foetus)}(\%) = \frac{Cl(BPS.d8, foetus) \times AUC(BPS, mère \rightarrow BPS, foetus)}{Dose\ BPS\ administré\ (mère)} \times 100$$

Avec $AUC (BPS, mère \rightarrow BPS, foetus)$ l'aire sous la courbe des concentrations plasmatiques en BPS en fonction du temps, chez le fœtus, après administration de BPS à la mère ((ng/mL)*min).

• **Equation 7 :**

$$Transfert_{BPS.d8(foetus \rightarrow mère)}(\%) = \frac{Cl(BPS, mère) \times AUC(BPS.d8, foetus \rightarrow BPS.d8, mère)}{Dose\ BPS.d8\ administré\ (foetus)} \times 100$$

Avec $AUC (BPS.d8, foetus \rightarrow BPS.d8, mère)$ l'aire sous la courbe des concentrations plasmatiques en BPS-d8 en fonction du temps, chez la mère, après administration de BPS-d8 au fœtus ((ng/mL)*min).

• **Equation 8 :**

$$Transfert_{BPSG(mère \rightarrow foetus)}(\%) = \frac{Cl(BPSG.d8, foetus) \times AUC(BPSG, mère \rightarrow BPSG, foetus)}{Dose\ BPSG\ administré\ (mère)} \times 100$$

Avec $AUC (BPSG, mère \rightarrow BPSG, foetus)$ l'aire sous la courbe des concentrations plasmatiques en BPSG en fonction du temps, chez le fœtus, après administration de BPSG à la mère ((ng/mL)*min).

Les masses molaires des molécules, reportées dans le Tableau 1, ont également été utilisées. Les paramètres toxicocinétiques ont été reportés sous forme de moyenne \pm écart-type. Certains animaux n'ont pas été inclus dans la deuxième période, pour des raisons pathologiques (avortements) ou techniques (BPSG-d8 non disponible pour la brebis B2) (Tableau 2).

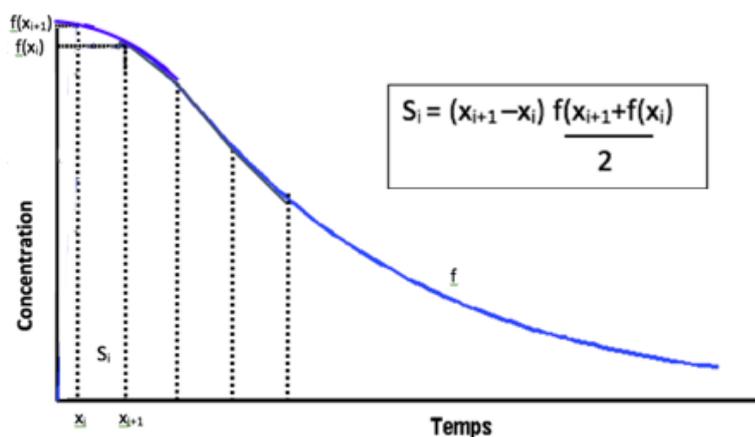


Figure 4 : Schéma explicatif d'un calcul d'une aire sous la courbe par la méthode des trapèzes.

	BPS	BPSG	BPS-d8	BPSG-d8
Masse molaire (g/mol)	250,2704	426,39452	258,32	434,4

Tableau 1 : Masses molaires du BPS, BPSG, BPS-d8 et BPSG-d8 en g/mol.

	Période d'exclusion	Causes d'exclusion
Brebis B2/00283	Deuxième période, pour le fœtus	Pas d'administration de BPSG-d8 au fœtus
Brebis B5/20131	Période 1 et 2, pour le fœtus	Le fœtus a reçu 1,8mg/kg au lieu de 2mg/kg lors de la première période et n'a pas reçu de BPSG-d8 lors de la seconde période
brebis B9/20425	Aucune	-
brebis B10/30108	Aucune	-
brebis B12/30232	Deuxième période, pour le fœtus	Avortement entre la première et la deuxième période
brebis B13/30404	Aucune	-
brebis B21/30201	Période 2	Seule la première période a été effectuée (avortement)
brebis B24/40322	Aucune	-

Tableau 2 : Causes d'exclusion des animaux pour les deux périodes de l'étude.

- Expérience 2 : administrations répétées de BPS aux brebis gravides.

Comme précédemment, les aires sous les courbes ont été calculées par les méthode des trapèzes linéaires. Ainsi, ont été calculées pour chaque couple brebis-foetus :

- L'aire sous la courbe de concentrations du BPS chez le fœtus en fonction du temps lors de la perfusion de BPS à la mère, sur une période de 24 heures.
- L'aire sous la courbe de concentrations du BPS chez le fœtus en fonction du temps, à l'issue du dernier bolus de BPS administré à la mère, sur une période de 48 heures.

Le taux d'accumulation du BPS dans le compartiment fœtal est ensuite calculé pour chaque couple, selon l'équation 9 :

$$Accumulation = \frac{AUC_{([BPS]foetus, dernier bolus)}}{AUC_{([BPS]foetus, perfusion)}} \times \frac{dose\ de\ charge}{dose\ d'entretien}$$

D'après (Toutain, Bousquet-Mélou 2004)

III. Evaluation des paramètres toxicocinétiques materno-fœtaux du BPS et du BPSG

1. Profils de concentrations de BPS et de BPSG dans l'unité materno-fœtale

Les figures 5 et 6 montrent l'évolution des concentrations plasmatiques moyennes en BPS-d8, BPSG et BPSG-d8 libres en fonction du temps, chez la mère et le fœtus après des administrations simultanées de bolus IV de BPSG (2,7mg/kg) à la mère et de BPS-d8 (2mg/kg) au fœtus.

Après administration de BPSG à la mère, la concentration en BPSG dans le plasma maternel diminue et passe d'environ 45000ng/mL à la LLOQ en 10 heures (Figure 5C). Chez le fœtus, la concentration en BPSG augmente pour atteindre une valeur maximale de 65ng/mL au bout de 10 heures puis diminue lentement (Figure 5D). Le BPSG fœtal peut avoir pour origine le passage du BPSG du compartiment maternel au compartiment fœtal ou, plus probablement, venir de la contamination du BPSG administré à la mère par du BPS.

D'autre part, les figures 5A et 5B mettent en évidence une augmentation puis une diminution rapides de la concentration en BPS dans le plasma maternel ainsi que dans le plasma fœtal. De même, ceci peut s'expliquer par une hydrolyse du BPSG en BPS chez la mère ainsi que par un passage du BPS au compartiment fœtal. La contamination du BPSG par du BPS doit cependant être prise en compte. Cette dernière sera vérifiée dans la partie suivante.

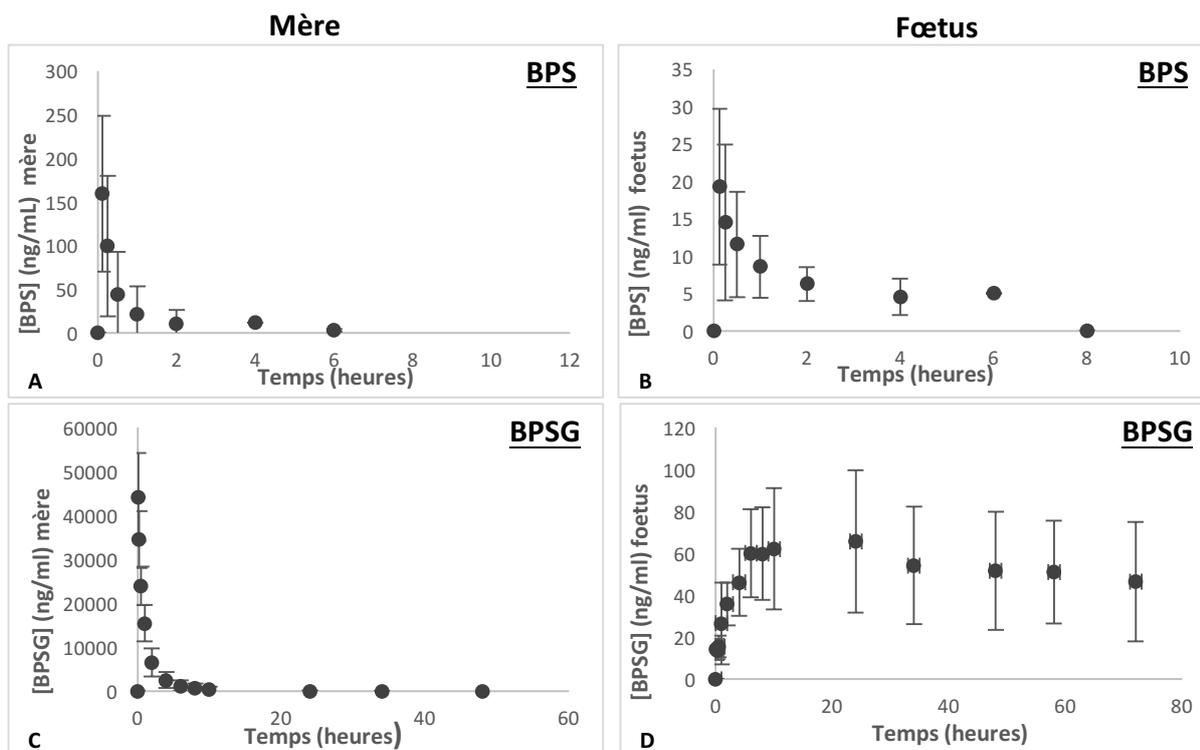


Figure 5 : Concentrations plasmatiques du BPS et BPSG chez la brebis et le fœtus en fonction du temps après administration IV de BPSG à la mère à la dose de de 2,7mg/kg.

Après administration de BPS-d8 au fœtus, la concentration de BPS-d8 libre dans le plasma foetal diminue rapidement dans les huit premières heures post-administration, puis reste stable, autour de 8ng/mL (Figure 6B). Les concentrations en BPSG-d8 dans le plasma foetal sont maximales (5500ng/mL) 4heures après administration de BPS-d8 au fœtus et diminuent extrêmement lentement jusqu'au dernier prélèvement à 72h pour lequel le niveau de concentration reste élevé (3300ng/mL) (Figure 6D). Ceci confirme la glucuronoconjugaison du BPS-d8 en BPSG-d8 dans le compartiment foetal.

Les concentrations plasmatiques maternelles en BPS-d8 et BPSG-d8 ont également été mesurées (Figures 6A et 6C respectivement). Elles augmentent rapidement après administration au fœtus puis tendent à diminuer, lentement pour le BPS-d8, plus rapidement pour le BPSG-d8. Ceci met en évidence un passage du BPS-d8 du fœtus à la mère à travers la barrière placentaire ainsi qu'une métabolisation du BPS-d8 en BPSG-d8 dans le compartiment maternel.

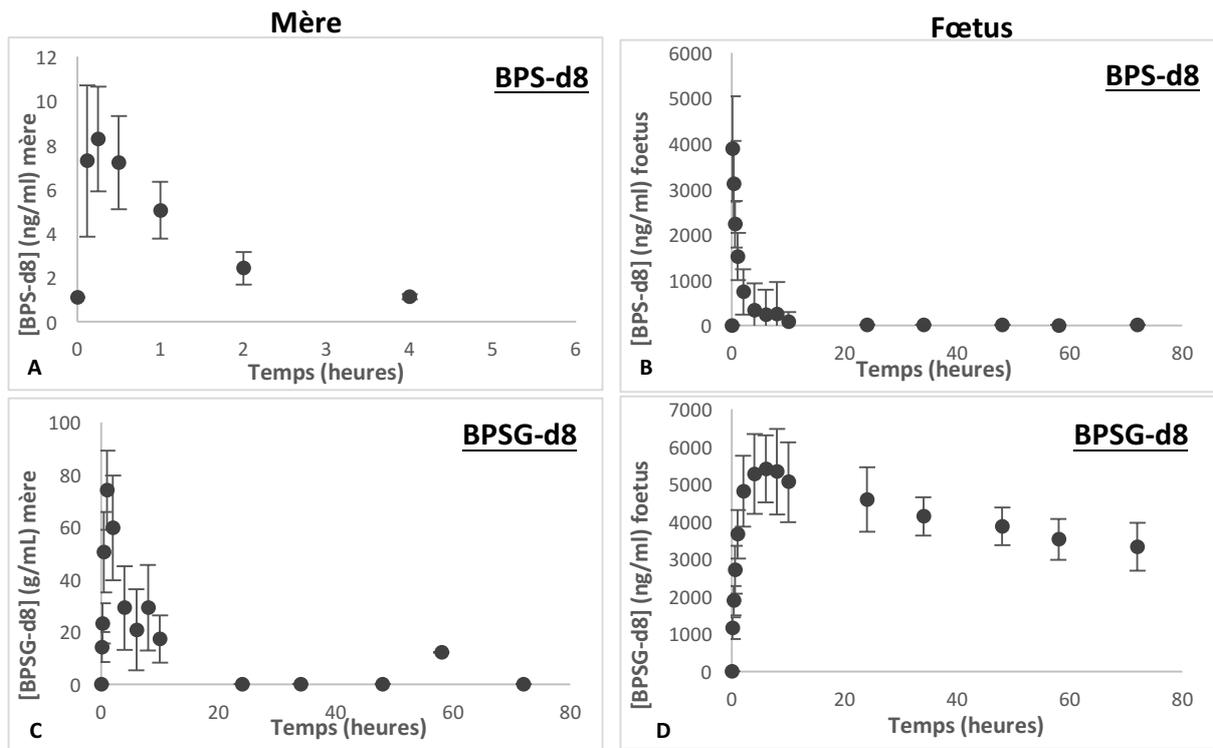


Figure 6 : Concentrations plasmatiques du BPS-d8 et BPSG-d8 chez la brebis et le fœtus en fonction du temps, après administration IV de BPS-d8 au fœtus à la dose de 2 mg.

Les figures 7 et 8 montrent l'évolution temporelle des concentrations plasmatiques moyennes en BPS, BPS-d8, BPSG et BPSG-d8, chez la mère et le fœtus après administrations simultanées d'un bolus IV de BPS (5 mg/kg) à la mère et de BPSG-d8 (7 mg/kg) au fœtus. Après administration de BPS à la mère, les concentrations plasmatiques maternelles en BPS libre diminuent de 16000ng/mL jusqu'à la LLOQ dans les 24h post-administration (Figure 7A). La concentration plasmatique maternelle en BPSG est maximale (75000ng/mL) 7 minutes après administration de BPS et atteint des valeurs inférieures à la LLOQ 72 h post-administration de BPS, montrant une conjugaison rapide du BPS en BPSG dans le compartiment maternel ainsi qu'une élimination rapide du BPSG (Figure 7C). Dans le compartiment fœtal, une augmentation, suivie d'une diminution rapide puis lente des concentrations plasmatiques en BPS libre sont observées, mettant en évidence un transfert materno-fœtal du BPS (Figure 7B). Enfin, la Figure 7D montre une augmentation rapide des concentrations fœtales en BPSG qui atteignent environ 1200ng/ml en 8 heures. Ces dernières diminuent ensuite lentement et atteignent 900 ng/mL 72h post administration de BPS à la mère. Ceci met en évidence une glucuroconjugaison du BPS dans le compartiment fœtal.

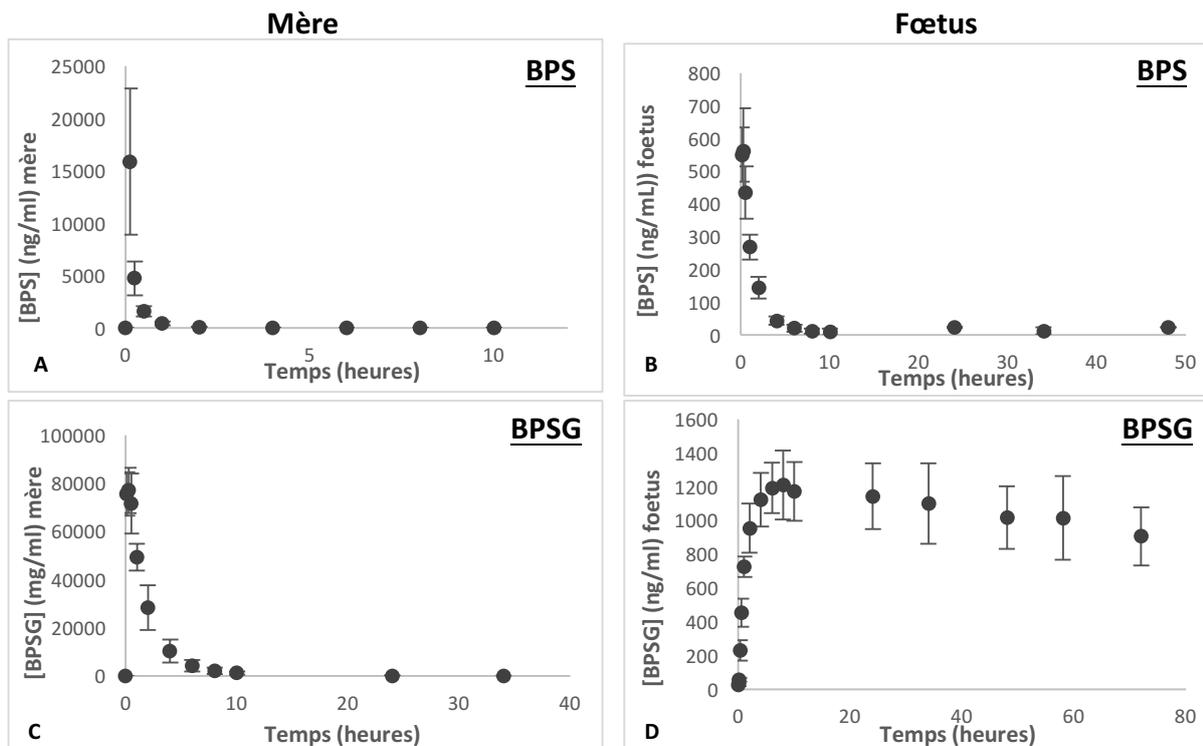


Figure 7: Concentrations plasmatiques du BPS et BPSG (ng/mL) chez la mère et le fœtus en fonction du temps, après administration de BPS à la mère à la dose de 5mg/kg.

Après l'administration de BPSG-d8 au fœtus, les concentrations plasmatiques en BPSG-d8 diminuent très lentement dans le compartiment fœtal, de 36700ng/mL au moment de l'administration jusqu'à 16220ng/mL 72h après (Figure 8B). De manière concomitante, les concentrations plasmatiques en BPS-d8 augmentent rapidement puis plus lentement jusqu'à 72h post-administration montrant une hydrolyse du BPSG-d8 en BPS-d8 dans le compartiment fœtal (Figure 8A).

Le BPS-d8 ainsi que le BPSG-d8 n'ont pas été détectés dans le compartiment maternel après l'administration fœtale de BPSG-d8.

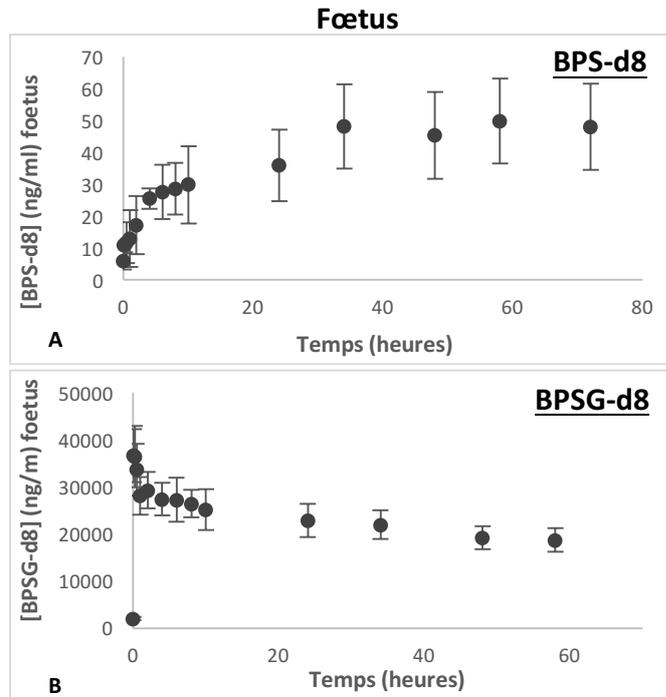


Figure 8 : Concentrations plasmatiques du BPS-d8 et BPSG-d8 (ng/mL) chez le fœtus en fonction du temps, après administration IV de BPSG-d8 au fœtus à la dose de 7 mg/kg.

2. Paramètres toxicocinétiques

2.1 Clairances du BPS et du BPSG dans les compartiments maternel et fœtal

Le tableau 3 donne les valeurs individuelles et moyennes du BPS et du BPSG chez la mère et le fœtus ovin.

Clairance (ml/(kg*min))	BPS		BPSG	
	Fœtus	Mère	Fœtus	Mère
Brebis B2/00283	4.765	11.869	-	0.629
Brebis B5/20131	-	15.640	-	0.464
brebis B9/20425	4.803	10.720	0.064	1.349
brebis B10/30108	4.946	27.872	0.085	1.327
brebis B12/30232	9.963	18.183	-	0.725
brebis B13/30404	6.316	18.143	0.077	1.074
brebis B21/30201	8.691	-	-	0.742
brebis B24/40322	9.757	29.873	0.076	0.980
Moyenne ± Ecart type	7.034 ± 2.371 (n=7)	18.899 ± 7.405 (n=7)	0.075 ± 0.008 (n=4)	0.911 ± 0.325 (n=8)

Tableau 3 : Clairances plasmatiques individuelles et moyennes (\pm écart-type) du BPS et BPSG chez la mère et le fœtus ovin, calculées sur une période de 72 heures.

Les clairances plasmatiques du BPS et du BPSG sont respectivement 2,5 et 12 fois plus faibles dans le compartiment fœtal que dans le compartiment maternel.

2.2 Taux de conjugaison du BPS en BPSG dans les compartiments maternel et fœtal

Le tableau 4 donne les taux de conjugaison du BPS en BPSG individuels et moyens dans les compartiments maternel et fœtal.

Taux de conjugaison sur 72h (%)	Conjugaison du BPS en BPSG	
	Fœtus	Mère
Brebis B2/00283	-	105.931
Brebis B5/20131	-	71.450
brebis B9/20425	32.111	127.651
brebis B10/30108	49.193	154.641
brebis B12/30232	-	104.622
brebis B13/30404	47.668	97.030
brebis B21/30201	-	-
brebis B24/40322	43.614	110.248
brebis B25/50076	-	-
Moyenne ± Ecart type	43.1± 7.72 (n=4)	110.2 ± 25.8 (n=7)

Tableau 4 : Taux de conjugaison du BPS en BPSG, individuels et moyens calculés sur une période de 72 heures, dans le compartiment maternel et fœtal sur le modèle ovin.

Le taux de conjugaison maternel moyen est proche de 100%. Cela indique que le BPS administré à la mère est majoritairement conjugué, laissant alors supposer que seul un faible pourcentage de BPS pourrait passer dans le compartiment fœtal.

De plus, chez le fœtus, il apparaît qu'un peu moins de la moitié du BPS administré est conjugué en BPSG sur la période de 72 heures.

2.3 Taux d'hydrolyse du BPSG en BPS dans les compartiments maternel et fœtal

Le tableau 5 donne les taux d'hydrolyse du BPSG en BPS individuels et moyens dans les compartiments maternel et fœtal.

Taux d'hydrolyse sur 72h (%)	Hydrolyse du BPSG en BPS	
	Fœtus	Mère
Brebis B5/20131	-	3.325
brebis B9/20425	25.4560	4.804
brebis B10/30108	22.650	7.444
brebis B12/30232	-	3.157
brebis B13/30404	28.920	1.965
Moyenne ± Ecart type	25.308 ± 2.668 (n=4)	4.139 ± 2.105 (n=5) * Dû à la contamination de la dose de BPSG par du BPS (Cf. infra)

Tableau 5 : Taux d'hydrolyse du BPSG en BPS, individuels et moyens, calculés sur une période de 72 heures, dans le compartiment maternel et fœtal sur le modèle ovin.

Chez le fœtus, environ un quart du BPSG est hydrolysé en BPS. Chez la mère, le taux de 4% d'hydrolyse évalué correspond à la contamination de la dose de BPSG par le BPS (4,4%), ce qui signifie qu'il n'y a pas ou très peu d'hydrolyse du BPSG en BPS dans le compartiment maternel.

2.4 Taux de transferts placentaires materno-fœtal et fœto-maternel du BPS et du BPSG

Le tableau 6 donne les taux de transferts materno-fœtaux et fœto-maternels individuels et moyens du BPS et du BPSG.

Taux de transfert (%) sur 72h	BPS		BPSG	
	De la mère au fœtus	Du fœtus à la mère	De la mère au fœtus	Du fœtus à la mère
Brebis B2/00283	0.246	12.930	-	-
brebis B9/20425	0.299	17.453	0.012	-
brebis B10/30108	0.220	34.725	0.018	-
brebis B12/30232	0.442	6.649	-	-
brebis B13/30404	0.165	26.510	0.025	-
brebis B24/40322	0.632	25.740	0.0274	-
Moyenne ± Ecart type	0.334 ± 0.174 (n=6)	20.668 ± 10.239 (n=6)	0.021 ± 0.007 (n=4) * Dû à la contamination de la dose de BPSG par du BPS (Cf infra.).	-

Tableau 6 : Taux de transferts materno-fœtaux et fœto-maternels individuels et moyens du BPS et BPSG, calculés sur une période de 72, dans le compartiment maternel et fœtal sur le modèle ovin.

Ces résultats mettent tout d'abord en évidence un très faible transfert placentaire materno-fœtal du BPS. Dans le sens fœto-maternel, un passage modéré du BPS est au contraire observé. Nous remarquons cependant que le taux de transfert fœto-maternel est variable, avec par exemple un taux pour la brebis B12 trois fois plus faible que celui observé chez les autres animaux. Ces variations pourraient être expliquées par des différences de débits ombilicaux, liés notamment au poids des fœtus ou à leur nombre.

Après administration de 7mg/kg de BPSG-d8 au fœtus, le BPSG-d8 dans le compartiment maternel n'est pas détecté. En considérant des concentrations maternelles en BPSG-d8 égales à la LLOQ (10 ng/mL) pendant la première heure, nous avons estimé que le transfert fœto-maternel du BPSG est inférieur à 0,12%, selon les calculs suivants. En effet, la dose de BPSG que l'on peut retrouver chez la mère après une administration de

7mg/kg de BPSG au fœtus, correspondant à 17,5mg pour un poids moyen de 2,5kg, est calculée d'après l'équation 1 :

Dose BPSG mère = $Cl_{BPSG, mère} \times AUC_{BPSG, mère \text{ à la LLOQ}} = 273,3 \text{ ng/kg}$, soit 0,021mg de BPSG *in toto* (en prenant un poids moyen de 75,77 kg). On retrouve ainsi un taux de transfert fœto-maternel du BPSG lors de la première heure après administration inférieur à 0,12%.

D'autre part, nous avons testé l'hypothèse selon laquelle le faible passage materno-fœtal du BPSG observé dans notre étude pourrait être un biais, lié à la contamination de la dose de BPSG (2,7mg/kg) administré à la mère, par au maximum 4,4% de BPS.

En effet, lors de l'administration de BPSG, la brebis a reçu au maximum 0,119mg/kg soit 9,017mg de BPS *in toto*. La dose de BPS que l'on peut retrouver dans le compartiment fœtal, liée à la contamination de la dose de BPSG est donc égale à : $9,017 \times \text{taux de transfert materno-fœtal du BPS (0,334\%)} = 0,030 \text{ mg in toto (0,012 mg/kg)}$. L'AUC estimée liée à la contamination est donc de $\frac{\text{Dose BPS entrée dans le compartiment foetal}}{Cl_{BPS,foetus}} = 1712,570 \text{ ng/(mL*min)}$.

Cette valeur est très proche de l'AUC du BPS observée dans le compartiment fœtal, de $1549,703 \pm 729,412 \text{ ng/(mL*min)}$. Nous pouvons ainsi conclure que le BPS mesuré dans le compartiment fœtal après administration de BPSG à la mère est du non pas à un passage transplacentaire de la molécule mais à la quantité de BPS résiduelle dans la dose de BPSG, purifiée à partir des urines de brebis ayant reçu du BPS.

De même, du BPSG est mesuré dans le compartiment fœtal après administration de 2,7mg/kg de BPSG à la mère. Or, nous avons mis en évidence un passage materno-fœtal du BPS de 0,012mg/kg soit 48 nmol/kg de BPS lors de cette période. Ce BPS est ensuite conjugué en BPSG. La dose de BPSG après conjugaison dans le compartiment fœtal est donc de $48 \text{ nmol/kg} \times \text{taux de conjugaison du BPS chez le fœtus, soit } 20,69 \text{ nmol/kg}$, et donc 8821,328 ng/kg. L'AUC du BPSG estimée chez le fœtus, liée à la contamination est donc de $\frac{\text{dose BPSG dans le compartiment foetal}}{Cl_{BPSG,foetus}} = 117618 \text{ ng/(mL*min)}$, correspondant à l'AUC observée

de 105700, ng/(mL*min). Ce résultat renforce les données précédentes, et indique que le BPSG mesuré dans le compartiment fœtal après administration de BPSG à la mère est du non pas à un passage transplacentaire de la molécule mais à la contamination de la dose par le BPS qui est transféré dans le compartiment fœtal et conjugué en BPSG.

En définitive, lors d'exposition de la mère au BPSG, la molécule n'est ni hydrolysée en BPS, ni transférée au fœtus à travers le placenta, mais est éliminée en totalité dans les urines.

3. Evaluation de l'accumulation du BPS dans le compartiment fœtal

3.1 Profils de concentrations

La figure 9 montre l'évolution des concentrations plasmatiques moyennes en BPS et BPSG libres dans le plasma en fonction du temps, chez la mère et le fœtus après administration maternelle d'une perfusion IV de BPS à la dose de 75mg/kg et au débit de 2,3mL/h sur 24 heures.

Dans le compartiment maternel, les concentrations en BPS et BPSG augmentent rapidement et restent stables à environ 15nmol/mL (soit 3,75 mg/mL) et 110nmol/mL (soit 46mg/mL), respectivement (Figure 9A et 9C). Ce plateau est atteint 6 heures après le début de la perfusion de BPS. Ceci met en évidence une importante glucuronoconjugaison du BPS en BPSG chez la mère.

De même, dans le compartiment fœtal, les concentrations plasmatiques en BPS augmentent rapidement et restent stables à des valeurs maximales de 0,8nmol/mL environ (0,2mg/mL), montrant un passage materno-fœtal rapide de la molécule (Figure 9B). Ces concentrations sont cependant plus de 10 fois plus faibles que chez la mère. Enfin, la figure 9D montre une augmentation lente et constante de la concentration en BPSG chez le fœtus, et ce jusqu'à la fin de la perfusion.

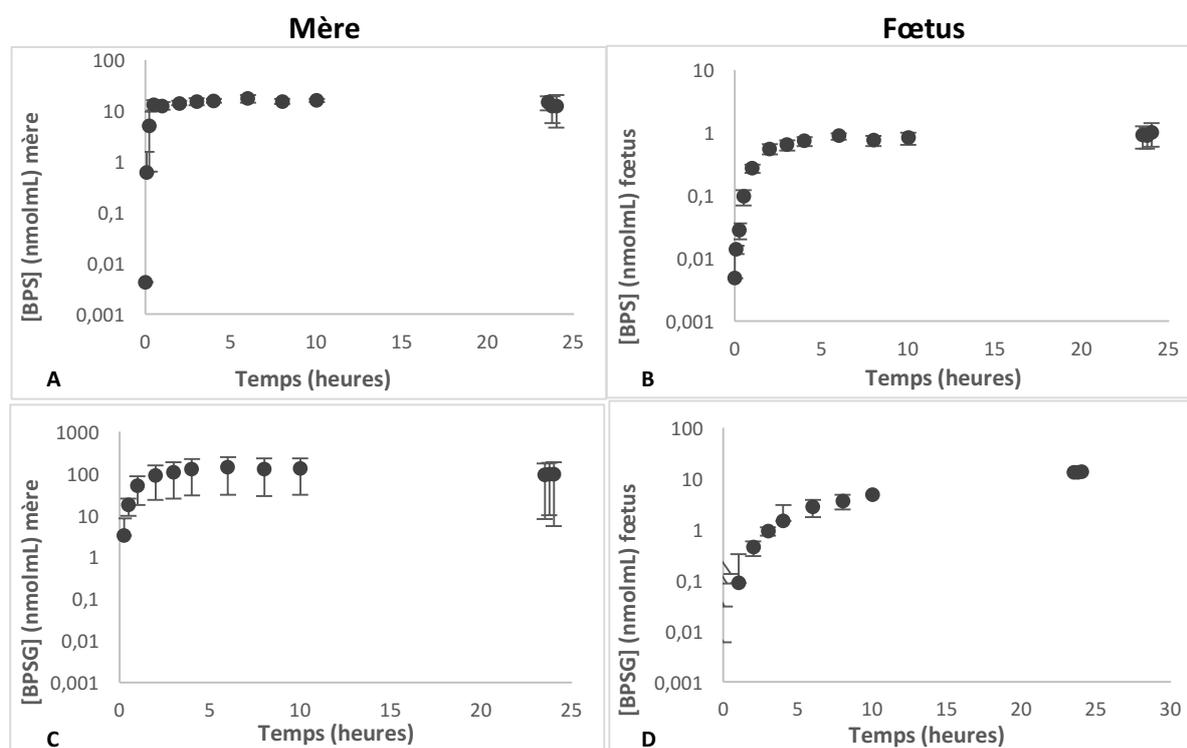


Figure 9 : Concentrations moyennes en BPS et BPSG (échelle logarithmique) chez la mère et le fœtus après perfusion IV de 75mg/kg de BPS à la mère à 2,3 mL/h pendant 24 heures.

La figure 10 montre l'évolution des concentrations plasmatiques moyennes en BPS et BPSG chez la mère et le fœtus, lors d'administrations de bolus IV de BPS à 5mg/kg à la mère. Les six premières valeurs, correspondant aux concentrations plasmatiques en BPS et BPSG avant l'administration des bolus, sont stables. Elles représentent donc les concentrations à l'équilibre.

Les figures 10A, 10B et 10C mettent en évidence une augmentation importante des concentrations plasmatiques en BPS et BPSG chez la mère et en BPS chez le fœtus après le dernier bolus de BPS à la mère. Ces dernières atteignent en effet une valeur maximale de 76 nmol/mL, 140 nmol/mL et 1,7 nmol/mL respectivement, au bout de 30 minutes après le bolus. Les concentrations tendent ensuite à diminuer rapidement au cours des 30 minutes suivantes puis lentement jusqu'à 24h post-injection. Lors de cette décroissance, les concentrations de BPS et de BPSG dans le plasma fœtal sont, de plus, beaucoup plus élevées que celles dans le plasma maternel.

La figure 10D montre quant à elle une faible augmentation de la concentration en BPSG dans le compartiment fœtal après la dernière administration de BPS à la mère, ainsi qu'une décroissance relativement lente, mettant en évidence une persistance du BPSG chez le fœtus.

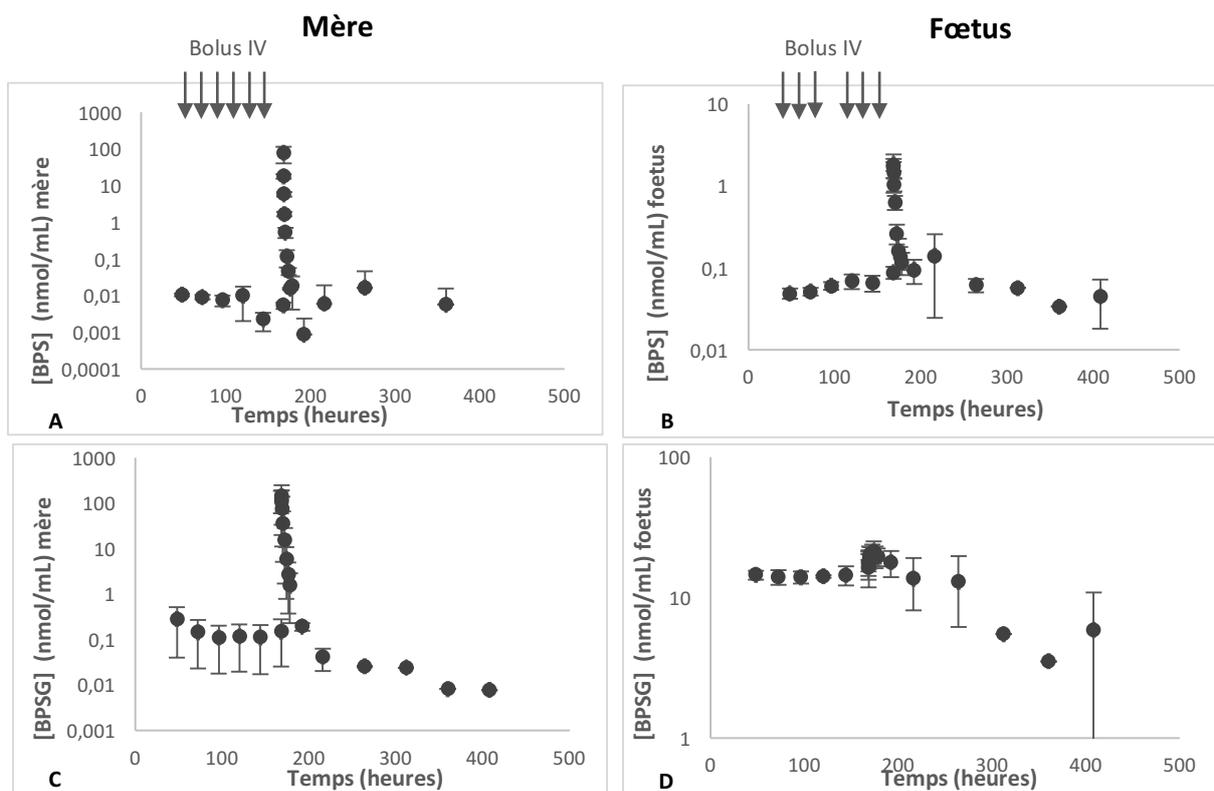


Figure 10 : Concentrations moyennes en BPS et BPSG (échelle logarithmique) chez la mère et le fœtus en fonction du temps, lors d'administrations répétées de bolus BPS IV à 5mg/kg à la mère.

3.2 Accumulation du BPS dans le compartiment fœtal

Le ratio d'accumulation du BPS chez les trois fœtus est calculé selon l'équation 9 et présenté dans le tableau 7.

Le ratio moyen obtenu est ainsi de **6,8**,

	Taux d'accumulation
B28/40105	7.939
B30/20040	4.388
B33/20110	8.124
Moyenne	6.817 ± 2.106

Tableau 7: Ratios d'accumulation individuels et moyen du BPS chez le fœtus après administration de BPS à la mère, sous forme de perfusion IV à la dose de 75mg/kg au débit de 2,3mL/h sur 24 heures suivi de 7 bolus IV à 5mg/kg/h toutes les 24 heures.

IV. DISCUSSION

Cette étude a permis d'évaluer les principaux paramètres toxicocinétiques du BPS et du BPSG (Figure 11) et de comparer ces paramètres à ceux du BPA et du BPAG (Figure 12). Nous avons ainsi montré que les clairances du BPS et BPSG chez la mère et le fœtus sont plus faibles que celles du BPA et BPAG, respectivement 1,7 et 7,7 fois chez la mère et 45,6 et 5,3 fois chez le fœtus. Ceci démontre une moindre capacité d'élimination du BPS et de son conjugué dans les compartiments maternel et fœtal, en comparaison avec le BPA (Tableaux 8 et 9).

Afin d'étudier les paramètres toxicocinétiques du BPS et du BPSG pour évaluer le risque lié à l'exposition chez l'Homme, le modèle du fœtus ovin instrumenté a été utilisé. Ce modèle est en effet le seul permettant de prendre en compte simultanément tous les facteurs physiologiques déterminants l'exposition fœtale. Nous savons que la diffusion passive, principal mécanisme de transfert placentaire, ne dépend pas de la structure du placenta. En effet, anatomiquement la placentation ovine diffère histologiquement de la placentation humaine, ce qui pourrait entraîner des différences interspécifiques importantes en termes de transfert des xénobiotiques. Ainsi, chez l'ovine, la placentation est syndesmochoriale, la circulation sanguine maternelle est séparée de la circulation fœtale par cinq couches de tissus, alors qu'elle est hémochoriale chez l'Homme, avec seulement trois couches de tissus séparant les circulations sanguines et maternelles. (J. S. Barry, Anthony 2008).

Cependant, d'après Leiser et al., (1997), l'organisation en villosités du cotylédon ovine est structurellement similaire à celle du placenta humain. De plus, la présence de zones d'érosion de la muqueuse utérine et de l'endothélium vasculaire maternel chez l'ovine permet localement un contact direct du sang maternel avec le trophoblaste fœtal, rapprochant les circulations maternelles et fœtales et lui conférant des similitudes avec la placentation hémochoriale humaine (Sammin et al. 2009). La placentation des ovins n'est donc pas identique à celle de l'Homme, cependant, elle en est suffisamment proche pour que la plupart des mécanismes de transfert d'oxygène et de nutriments qui ont été découverts chez le mouton soient par la suite confirmés chez l'Homme (Pardi, Cetin 2006).

Les similarités par rapport à l'Homme en termes de poids fœtal, de nombre de fœtus par individu et de maturité fœtale à la naissance, ainsi que la possibilité de réaliser des prélèvements fœtaux sériés, font donc du mouton un modèle pertinent vis-à-vis de l'Homme pour l'étude des échanges transplacentaires des xénobiotiques.

Les résultats de notre étude mettent en évidence une glucurono-conjugaison totale du BPS chez la mère après administration d'un bolus IV. Ce résultat est en accord avec ceux obtenus chez des brebis non gravides et avec le pourcentage élevé de BPS conjugué mesuré dans les urines humaines (97%) (Zhou et al. 2014, Oh et al. 2018). De plus, ce taux de conjugaison élevé est cohérent avec la clairance non placentaire élevée du BPS. Des résultats similaires ont également été précédemment obtenus pour le BPA (Corbel et al. 2013) (Figure 11). Ce résultat confirme que quand la mère est exposée à du BPA ou à du BPS (par voie intraveineuse), ce dernier est en totalité converti en BPAG ou BPSG respectivement et est éliminé majoritairement dans les urines.

Par ailleurs, une fraction de 0,33% de la dose de BPS administrée à la mère est transférée au fœtus. Cela signifie que, rapporté à son poids, le fœtus est exposé à une dose 10 fois plus faible que sa mère. Ce résultat, qui atteste de la capacité du BPS à traverser la barrière placentaire, est cohérent avec la détection du BPS dans le sérum de cordon ombilical chez l'homme (Liu et al. 2017). Néanmoins, la perméabilité placentaire du BPS reste limitée et environ 13 fois plus faible que celle du BPA (4,5% de transfert placentaire, (Corbel et al. 2013)). Ainsi, lorsque la mère est exposée au BPS pendant la grossesse, cette molécule passe beaucoup moins au fœtus que le BPA, et ce probablement à cause des propriétés physico-chimiques du BPS ($\text{LogP} = 1,83$ pour le BPS, $>3,43$ pour le BPA). Le BPA serait donc capable de plus traverser le placenta par diffusion passive que le BPS. Cependant, compte tenu de la réduction du nombre de couches cellulaires chez les primates par rapport à l'espèce ovine, (Barry James S, Anthony 2008), le transfert placentaire du BPS pourrait être plus important chez les humains. En vue de vérifier cette hypothèse et de comparer les résultats avec ceux du BPA, une étude *ex-vivo* a été réalisée avec des placentas humains à terme (Grandin et al. 2019). Ainsi, quatorze placentas à terme ont été perfusés en double circuit ouvert avec du BPS-d8, du BPSG non marqué et un marqueur de diffusion passive, l'antipyrine. Un inhibiteur connu de la glycoprotéine P, le PSC833, a ensuite été utilisé afin d'étudier le rôle potentiel de cette protéine dans le transfert placentaire du BPS. Cette étude a pu mettre en évidence un transfert placentaire du BPS bien inférieur à celui du BPA et ce, de la mère au fœtus comme du fœtus à la mère. De plus, la clairance placentaire materno-fœtale du BPS étant trois fois plus faible que la clairance fœto-maternelle, l'intervention d'un transporteur actif a été fortement suspectée. L'implication de la glycoprotéine P dans le transfert placentaire a toutefois été écartée. Cette étude a alors permis de mettre en évidence une efficacité de la barrière placentaire plus importante pour limiter l'exposition fœtale au

BPS qu'au BPA, montrant alors le rôle crucial du placenta dans la protection du fœtus humain à l'exposition du BPS.

D'autre part, chez le fœtus, la part de la métabolisation par rapport au transfert placentaire fœto-maternel dans l'élimination est plus importante pour le BPS que pour le BPA. Cependant, aucun transfert fœto-maternel du BPSG n'ayant été observé, ce métabolite semble piégé dans le compartiment fœtal. La principale voie d'élimination du BPSG serait alors sa réactivation en BPS (taux d'hydrolyse de 25,31% sur 72 heures). Ce taux d'hydrolyse serait, de plus, probablement de 100% sur une période plus longue. Ceci suggère que quasiment tout le BPSG doit être converti de nouveau en BPS afin d'être éliminé par le placenta, ce qui entraîne une réentrée graduelle du BPS dans le compartiment fœtal. Le degré d'augmentation d'exposition au BPS dans le compartiment fœtal a ainsi été estimé à 1,87 (Cheng et Jusko, 1993), indiquant que l'hydrolyse du BPSG en BPS augmenterait l'exposition du fœtus à ce dernier de 87%. Ce mécanisme, associé au faible transfert fœto-maternel placentaire du BPS (20,67%) conduirait à une persistance de la molécule dans l'unité fœtale 4 fois plus importante que celle du BPA (taux de transfert 70%). Cette hypothèse a été vérifiée par la seconde expérience. En effet, avec un schéma d'administrations répétées de BPS aux brebis gravides permettant d'atteindre l'équilibre, le potentiel d'accumulation du BPS dans l'unité fœtale a été démontré. Ainsi, le fœtus est 6,8 fois plus exposé au BPS lors d'exposition chronique qu'après une exposition unique. Par ailleurs, la lente conversion du BPSG en BPS dans le compartiment fœtal, ainsi que son transfert placentaire limité, mène à une exposition particulière du fœtus, caractérisée par des concentrations basales en BPS et BPSG bien plus importantes dans le plasma fœtal que dans le plasma maternel. Ce résultat démontre la persistance du BPS dans l'unité fœtale et suggère que le fœtus serait exposé au BPS de manière permanente pendant la gestation.

Dans notre étude, le devenir d'environ 35% de la dose de BPS introduite dans le compartiment fœtal n'a pas été déterminé. La première hypothèse est qu'une partie du BPS pourrait être métabolisée en une forme sulfatée. Le fœtus est en effet capable de produire des métabolites sulfatés grâce à la présence d'enzymes sulfatases, avec un taux de sulfoconjugaison d'environ 10% (Le Fol et al. 2015). Les 25% de la dose de BPS dont le devenir n'est pas expliqué par le métabolisme et le passage transplacentaire pourraient être distribués et stockés dans les tissus.

Cette étude nous a donc permis de mettre en évidence un potentiel d'exposition fœtale similaire pour le BPS et le BPA. En effet, il a pu être montré que bien que BPS soit largement moins transféré de la mère au fœtus lors d'exposition maternelle, l'accumulation de la

molécule dans le compartiment fœtal entraîne une exposition du fœtus au BPS en termes de concentrations plasmatiques au moins similaire à celle du BPA.

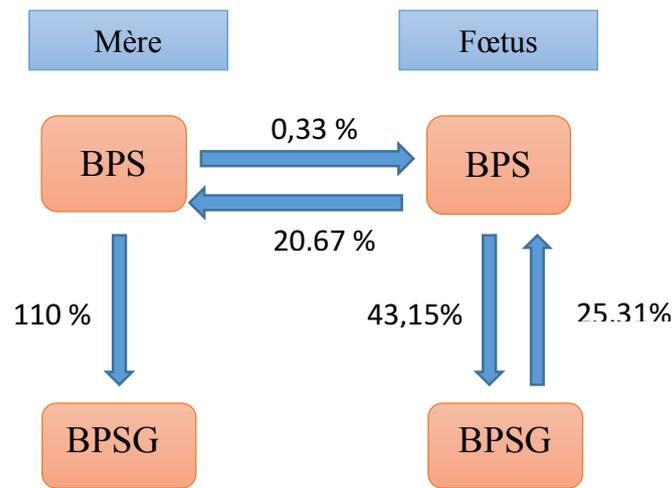


Figure 11 : Représentation schématique de la disposition du BPS et du BPSG dans les compartiments maternel et fœtal : les taux de transfert materno-foetaux du BPS et BPSG ainsi que les taux de conjugaison et d'hydrolyse, chez la mère et chez le fœtus sont indiqués.

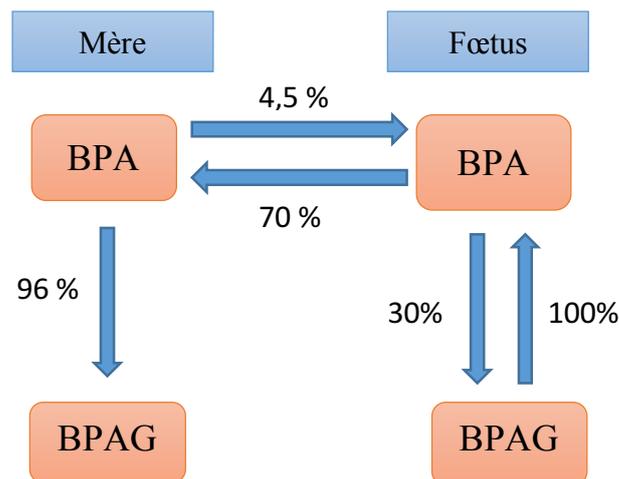


Figure 12: Représentation schématique de la disposition du BPA et du BPAG dans les compartiments maternel et fœtal : les taux de transfert materno-foetaux du BPA et BPAG ainsi que les taux de conjugaison et d'hydrolyse, chez la mère et chez le fœtus sont indiqués (Gauderat et al., 2016).

	Mère	Fœtus
Cl _{BPS} (mL/(kg*min))	18,9	7,034
Cl _{BPSG} (mL/(kg*min))	0,911	0,075

Tableau 8: Clairances plasmatiques du BPS et du BPSG maternelles et fœtales déterminées sur une brebis gravide.

	Mère	Fœtus
Cl _{BPA} (mL/(kg*min))	32,73	321,1
Cl _{BPAG} (mL/(kg*min))	6,999	0,40

Tableau 9 : Clairances plasmatiques du BPA et du BPAG maternelles et fœtales déterminée sur le modèle de la brebis gravide (Gauderat et al, 2016).

CONCLUSION

Cette étude apporte des informations nouvelles et essentielles sur les mécanismes d'exposition fœtale au BPS, en comparaison avec le BPA. En effet, nous avons vu que le transfert materno-fœtal limité du BPS à travers le placenta, 10 fois plus faible que celui du BPA, pourrait mener à des conclusions hâtives selon lesquelles le fœtus serait moins exposé au BPS qu'au BPA lors d'exposition maternelle (Gauderat 2016). Cependant, ce n'est pas le cas. En effet, en utilisant le modèle du fœtus ovin instrumenté, nous avons pu montrer que l'élimination lente du BPSG dans le compartiment fœtal due à son hydrolyse préalable en BPS, ainsi que le faible transfert fœto-maternel du BPS, entraînent une accumulation du BPS dans le compartiment fœtal et mènent à une exposition prolongée du fœtus. Ceci signifie qu'après une exposition répétée au BPS ou BPA pendant la gestation, le BPS peut atteindre des niveaux de concentrations similaires à ceux du BPA dans le compartiment fœtal.

Pour prendre en compte les différences interspécifiques de placentation, le transfert placentaire du BPS a été évalué sur le modèle de placenta humain à terme perfusé (Grandin et al. 2019). Comme pour le modèle ovin, le passage materno-fœtal du BPS est 10 fois inférieur à celui du BPA. Cependant les passages fœto-maternels du BPS et du BPSG sont respectivement 3 et 2 fois inférieurs à ceux du BPA, ce qui signifie que le BPS pourrait s'accumuler dans le compartiment fœtal.

En définitive, le potentiel d'exposition fœtale du BPS pourrait être similaire à celui du BPA, même si les mécanismes d'exposition sont différents, ce qui signifie que le BPS ne constitue pas une bonne alternative au BPA.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

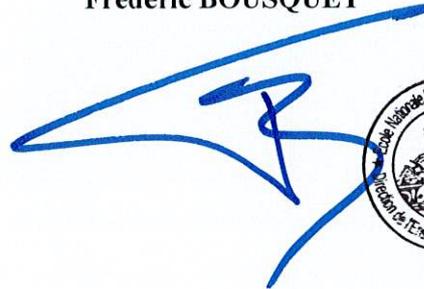
En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussignée, Nicole HAGEN-PICARD, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de Léa BOUCCARA intitulée « **Doit-on remplacer le Bisphénol A par le Bisphénol S ? Évaluation toxicocinétique du Bisphénol S dans l'unité materno-foeto-placentaire** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 20/06/2019
Professeur Nicole HAGEN-PICARD
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
Le Directeur par intérim de l'Ecole
Nationale Vétérinaire de Toulouse
Frédéric BOUSQUET



Vu :
Le Président du jury :
Professeur Jean PARINAUD



Mme Léa BOUCCARA
a été admis(e) sur concours en : 2014
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 18/07/2018
a validé son année d'approfondissement le : 20/06/2019
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

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 ANDRE-OBRECHT

BIBLIOGRAPHIE

AHMED, S. et ATLAS, E., 2016. Bisphenol S- and bisphenol A-induced adipogenesis of murine preadipocytes occurs through direct peroxisome proliferator-activated receptor gamma activation. *International Journal of Obesity (2005)*. 2016. Vol. 40, n° 10, pp. 1566-1573. DOI 10.1038/ijo.2016.95. PMID: 27273607

AHSAN, Nida, ULLAH, Hizb, ULLAH, Waheed et JAHAN, Sarwat, 2018. Comparative effects of Bisphenol S and Bisphenol A on the development of female reproductive system in rats; a neonatal exposure study. *Chemosphere*. avril 2018. Vol. 197, pp. 336-343. DOI 10.1016/j.chemosphere.2017.12.118. PMID: 29407803

ANSES, 2013. Évaluation des risques du bisphénol A (BPA) pour la santé humaine. Tome 1. Avis et rapport d'expertise collective. | Base documentaire | BDSP, [sans date]. [en ligne]. [Consulté le 28 mai 2019]. Disponible à l'adresse : <http://www.bdsp.ehesp.fr/Base/467874/>

EMA, 2018. Bioanalytical method validation. *European Medicines Agency* [en ligne]. 17 septembre 2018. [Consulté le 26 avril 2019]. Disponible à l'adresse : <https://www.ema.europa.eu/en/bioanalytical-method-validation> Bioanalytical method validation

BARRY, James S et ANTHONY, Russell V, 2008. The Pregnant Sheep as a Model for Human Pregnancy. *Theriogenology*. 1 janvier 2008. Vol. 69, n° 1, pp. 55-67. DOI 10.1016/j.theriogenology.2007.09.021. PMC: PMC2262949

BAZER, F. W., SPENCER, T. E. et THATCHER, W. W., 2012. Growth and development of the ovine conceptus. *Journal of Animal Science*. janvier 2012. Vol. 90, n° 1, pp. 159-170. DOI 10.2527/jas.2011-4180. PMID: 21841083

BOUCHER, J G, BOUDREAU, A et ATLAS, E, 2014. Bisphenol A induces differentiation of human preadipocytes in the absence of glucocorticoid and is inhibited by an estrogen-receptor antagonist. *Nutrition & Diabetes*. janvier 2014. Vol. 4, n° 1, pp. e102. DOI 10.1038/nutd.2013.43. PMID: 24418828 PMCID: PMC3904083

BOUCHER, Jonathan G., AHMED, Shaimaa et ATLAS, Ella, 2016. Bisphenol S Induces Adipogenesis in Primary Human Preadipocytes From Female Donors. *Endocrinology*. avril 2016. Vol. 157, n° 4, pp. 1397-1407. PMID: 27003841

BOUCHER, Jonathan G., BOUDREAU, Adèle, AHMED, Shaimaa et ATLAS, Ella, 2015. In Vitro Effects of Bisphenol A β -D-Glucuronide (BPA-G) on Adipogenesis in Human and Murine Preadipocytes. *Environmental Health Perspectives*. décembre 2015. Vol. 123, n° 12, pp. 1287-1293. DOI 10.1289/ehp.1409143. PMID: 26018136 PMCID: PMC4671229

CATANESE, Mary C. et VANDENBERG, Laura N., 2017. Bisphenol S (BPS) Alters Maternal Behavior and Brain in Mice Exposed During Pregnancy/Lactation and Their Daughters. *Endocrinology*. 01 2017. Vol. 158, n° 3, pp. 516-530. DOI 10.1210/en.2016-1723. PMID: 28005399 PMCID: PMC5460783

CHEN, Da, KANNAN, Kurunthachalam, TAN, Hongli, ZHENG, Zhengui, FENG, Yong-Lai, WU, Yan et WIDELKA, Margaret, 2016. Bisphenol Analogues Other Than BPA: Environmental Occurrence, Human Exposure, and Toxicity-A Review. *Environmental Science & Technology*. 7 juin 2016. Vol. 50, n° 11, pp. 5438-5453. PMID: 27143250

CHENG, H. et JUSKO, W. J., 1993. Pharmacokinetics of reversible metabolic systems. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*. décembre 1993. Vol. 14, n° 9, pp. 721-766. PMID: 8298069

CLAVERO, J. A., NEGUERUELA, J., ORTIZ, L., DE LOS HEROS, J. A. et MODREGO, S. P., 1973. Blood flow in the intervillous space and fetal blood flow. I. Normal values in human pregnancies at term. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1 juin 1973. Vol. 116, n° 3, pp. 340-346. PMID: 4707535

CORBEL, Tanguy, GAYRARD, Véronique, VIGUIÉ, Catherine, PUEL, Sylvie, LACROIX, Marlène Z., TOUTAIN, Pierre-Louis et PICARD-HAGEN, Nicole, 2013. Bisphenol A disposition in the sheep maternal-placental-fetal unit: mechanisms determining fetal internal exposure. *Biology of Reproduction*. juillet 2013. Vol. 89, n° 1, pp. 11. PMID: 23699389

DANZL, Erica, SEI, Kazunari, SODA, Satoshi, IKE, Michihiko et FUJITA, Masanori, 2009. Biodegradation of Bisphenol A, Bisphenol F and Bisphenol S in Seawater. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. avril 2009. Vol. 6, n° 4, pp. 1472-1484. DOI 10.3390/ijerph6041472. PMID: 19440529 PMID: 19440529 PMID: 19440529

ECHA, 2017. Seven new substances added to the Candidate List, entry for bisphenol-A updated. [en ligne]. [Consulté le 8 mai 2019]. Disponible à l'adresse : <https://echa.europa.eu/fr/-/seven-new-substances-added-to-the-candidate-list-entry-for-bisphenol-a-updated-to-reflect-its-endocrine-disrupting-properties-for-the-environment> Seven new substances added to the Candidate List, entry for bisphenol-A updated ECHA/PR/18/01 The Candidate List of substances of very high concern (SVHCs) for authorisation now contains...

ELADAK, Soria, GRISIN, Tiphany, MOISON, Delphine, GUERQUIN, Marie-Justine, N'TUMBA-BYN, Thierry, POZZI-GAUDIN, Stéphanie, BENACHI, Alexandra, LIVERA, Gabriel, ROUILLER-FABRE, Virginie et HABERT, René, 2015. A new chapter in the bisphenol A story: bisphenol S and bisphenol F are not safe alternatives to this compound. *Fertility and Sterility*. janvier 2015. Vol. 103, n° 1, pp. 11-21. PMID: 25475787

FABER, J. J., GAULT, C. F., GREEN, T. J. et THORNBURG, K. L., 1973. Fetal blood volume and fetal placental blood flow in lambs. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)*. janvier 1973. Vol. 142, n° 1, pp. 340-344. PMID: 4683256

GAUDERAT, Glenn, PICARD-HAGEN, Nicole, TOUTAIN, Pierre-Louis, CORBEL, Tanguy, VIGUIÉ, Catherine, PUEL, Sylvie, LACROIX, Marlène Z., MINDEGUIA, Pierre, BOUSQUET-MELOU, Alain et GAYRARD, Véronique, 2016. Bisphenol A glucuronide deconjugation is a determining factor of fetal exposure to bisphenol A. *Environment International*. janvier 2016. Vol. 86, pp. 52-59.

GAUDERAT, Glenn, 2016. *Impact des processus métaboliques foeto-placentaires sur l'exposition foetale au bisphénol A* [en ligne]. thesis. Toulouse, INSA. [Consulté le 28 mars 2019]. Disponible à l'adresse : <http://www.theses.fr/2016ISAT0013>

GAYRARD, Véronique, GAUDERAT, Glenn, LACROIX, Marlène Z., VIGUIÉ, Catherine, BOUSQUET-MELOU, Alain, TOUTAIN, Pierre-Louis et PICARD-HAGEN, Nicole, 2015. Comment on « In Vitro Effects of Bisphenol A β -D-Glucuronide (BPA-G) on Adipogenesis in Human and Murine Preadipocytes ». *Environmental Health Perspectives*. décembre 2015. Vol. 123, n° 12, pp. A289. DOI 10.1289/ehp.1510315. PMID: 26623714PMCID: PMC4671231

GERONA, Roy R., WOODRUFF, Tracey J., DICKENSON, Carrie A., PAN, Janet, SCHWARTZ, Jackie M., SEN, Saunak, FRIESEN, Matthew M., FUJIMOTO, Victor Y. et HUNT, Patricia A., 2013. Bisphenol-A (BPA), BPA glucuronide, and BPA sulfate in mid-gestation umbilical cord serum in a Northern and Central California population. *Environmental science & technology* [en ligne]. 5 novembre 2013. Vol. 47, n° 21. [Consulté le 3 août 2016]. Disponible à l'adresse : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3881559/> PMID: 23941471PMCID: PMC3881559

GRANDIN, Flore C., LACROIX, Marlène Z., GAYRARD, Véronique, GAUDERAT, Glenn, MILA, Hanna, TOUTAIN, Pierre-Louis et PICARD-HAGEN, Nicole, 2018. Bisphenol S instead of Bisphenol A: Toxicokinetic investigations in the ovine materno-feto-placental unit. *Environment International*. 2018. Vol. 120, pp. 584-592. DOI 10.1016/j.envint.2018.08.019. PMID: 30212803

GRANDIN, Flore C., LACROIX, Marlène Z., GAYRARD, Véronique, VIGUIÉ, Catherine, MILA, Hanna, DE PLACE, Alice, VAYSSIÈRE, Christophe, MORIN, Mathieu, CORBETT, Julie, GAYRARD, Cécile, GELY, Clémence A., TOUTAIN, Pierre-Louis et PICARD-HAGEN, Nicole, 2019. Is bisphenol S a safer alternative to bisphenol A in terms of potential fetal exposure? Placental transfer across the perfused human placenta. *Chemosphere*. avril 2019. Vol. 221, pp. 471-478. DOI 10.1016/j.chemosphere.2019.01.065. PMID: 30654261

HAUGEN, G., KISERUD, T., GODFREY, K., CROZIER, S. et HANSON, M., 2004. Portal and umbilical venous blood supply to the liver in the human fetus near term. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. novembre 2004. Vol. 24, n° 6, pp. 599-605. DOI 10.1002/uog.1744. PMID: 15517551

KOJIMA, Hiroyuki, TAKEUCHI, Shinji, SANOH, Seigo, OKUDA, Katsuhiko, KITAMURA, Shigeyuki, URAMARU, Naoto, SUGIHARA, Kazumi et YOSHINARI, Kouichi, 2019. Profiling of bisphenol A and eight of its analogues on transcriptional activity via human nuclear receptors. *Toxicology*. 1 février 2019. Vol. 413, pp. 48-55. DOI 10.1016/j.tox.2018.12.001.

KOLATOROVA, Lucie, VITKU, Jana, HAMPL, Richard, ADAMCOVA, Karolina, SKODOVA, Tereza, SIMKOVA, Marketa, PARIZEK, Antonin, STARKA, Luboslav et DUSKOVA, Michaela, 2018. Exposure to bisphenols and parabens during pregnancy and relations to steroid changes. *Environmental Research*. 2018. Vol. 163, pp. 115-122. DOI 10.1016/j.envres.2018.01.031. PMID: 29433019

KUMAR, S., TONN, G. R., KWAN, E., HALL, C., RIGGS, K. W., AXELSON, J. E. et RURAK, D. W., 1997. Estimation of transplacental and nonplacental diphenhydramine clearances in the fetal lamb: the impact of fetal first-pass hepatic drug uptake. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. août 1997. Vol. 282, n° 2, pp. 617-632. PMID: 9262323

KURUTO-NIWA, Ryoko, NOZAWA, Ryushi, MIYAKOSHI, Takashi, SHIOZAWA, Tatsushi et TERAOKA, Yoshiyasu, 2005. Estrogenic activity of alkylphenols, bisphenol S, and their chlorinated derivatives using a GFP expression system. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. janvier 2005. Vol. 19, n° 1, pp. 121-130. DOI 10.1016/j.etap.2004.05.009. PMID: 21783468

LE FOL, Vincent, AÏT-AÏSSA, Selim, CABATON, Nicolas, DOLO, Laurence, GRIMALDI, Marina, BALAGUER, Patrick, PERDU, Elisabeth, DEBRAUWER, Laurent, BRION, François et ZALKO, Daniel, 2015. Cell-Specific Biotransformation of Benzophenone-2 and Bisphenol-S in Zebrafish and Human in Vitro Models Used for Toxicity and Estrogenicity Screening. *Environmental Science & Technology*. 17 mars 2015. Vol. 49, n° 6, pp. 3860-3868. DOI 10.1021/es505302c.

LEISER, R., KREBS, C., EBERT, B. et DANTZER, V., 1997. Placental vascular corrosion cast studies: a comparison between ruminants and humans. *Microscopy Research and Technique*. 1 juillet 1997. Vol. 38, n° 1-2, pp. 76-87. DOI 10.1002/(SICI)1097-0029(19970701/15)38:1/2<76::AID-JEMT9>3.0.CO;2-S. PMID: 9260839

LIAO, Chunyang et KANNAN, Kurunthachalam, 2013. Concentrations and Profiles of Bisphenol A and Other Bisphenol Analogues in Foodstuffs from the United States and Their Implications for Human Exposure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 15 mai 2013. Vol. 61, n° 19, pp. 4655-4662. DOI 10.1021/jf400445n.

LIAO, Chunyang, LIU, Fang, GUO, Ying, MOON, Hyo-Bang, NAKATA, Haruhiko, WU, Qian et KANNAN, Kurunthachalam, 2012a. Occurrence of Eight Bisphenol Analogues in Indoor Dust from the United States and Several Asian Countries: Implications for Human Exposure. *Environmental Science & Technology*. 21 août 2012. Vol. 46, n° 16, pp. 9138-9145. DOI 10.1021/es302004w.

LIAO, Chunyang, LIU, Fang, ALOMIRAH, Husam, LOI, Vu Duc, MOHD, Mustafa Ali, MOON, Hyo-Bang, NAKATA, Haruhiko et KANNAN, Kurunthachalam, 2012b. Bisphenol S in urine from the United States and seven Asian countries: occurrence and human exposures. *Environmental Science & Technology*. 19 juin 2012. Vol. 46, n° 12, pp. 6860-6866. DOI 10.1021/es301334j.

LIAO, Chunyang, LIU, Fang, MOON, Hyo-Bang, YAMASHITA, Nobuyoshi, YUN, Seun et KANNAN, Kurunthachalam, 2012c. Bisphenol Analogues in Sediments from Industrialized Areas in the United States, Japan, and Korea: Spatial and Temporal Distributions. *Environmental Science & Technology*. 6 novembre 2012. Vol. 46, n° 21, pp. 11558-11565. DOI 10.1021/es303191g.

LIU, Jiaying, LI, Jingguang, WU, Yongning, ZHAO, Yunfeng, LUO, Fengji, LI, Shuming, YANG, Lin, MOEZ, Elham Khodayari, DINU, Irina Andreea et MARTIN, Jonathan W., 2017. Bisphenol A Metabolites and Bisphenol S in Paired Maternal and Cord Serum. *Environmental*

Science & Technology [en ligne]. 22 janvier 2017. DOI 10.1021/acs.est.6b05718. Disponible à l'adresse : <http://dx.doi.org/10.1021/acs.est.6b05718>

MALLOZZI, Maddalena, BORDI, Giulia, GARO, Chiara et CASERTA, Donatella, 2016. The effect of maternal exposure to endocrine disrupting chemicals on fetal and neonatal development: A review on the major concerns. *Birth Defects Research. Part C, Embryo Today: Reviews*. septembre 2016. Vol. 108, n° 3, pp. 224-242. DOI 10.1002/bdrc.21137. PMID: 27653964

MATTHEWS, J. B., TWOMEY, K. et ZACHAREWSKI, 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*. février 2001. Vol. 14, n° 2, pp. 149-157. PMID: 11258963

MERSHA, Mahlet D., PATEL, Bansri M., PATEL, Dipen, RICHARDSON, Brittany N. et DHILLON, Harbinder S., 2015. Effects of BPA and BPS exposure limited to early embryogenesis persist to impair non-associative learning in adults. *Behavioral and brain functions: BBF*. 2015. Vol. 11, pp. 27. PMID: 26376977PMCID: PMC4573949

MOLINA-MOLINA, José-Manuel, AMAYA, Esperanza, GRIMALDI, Marina, SÁENZ, José-María, REAL, Macarena, FERNÁNDEZ, Mariana F., BALAGUER, Patrick et OLEA, Nicolás, 2013. In vitro study on the agonistic and antagonistic activities of bisphenol-S and other bisphenol-A congeners and derivatives via nuclear receptors. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1 octobre 2013. Vol. 272, n° 1, pp. 127-136. PMID: 23714657

NGAMPRASERTWONG, Pornswan, DONG, Min, NIU, Jing, VENKATASUBRAMANIAN, Raja, VINKS, Alexander A. et SADHASIVAM, Senthilkumar, 2016. Propofol Pharmacokinetics and Estimation of Fetal Propofol Exposure during Mid-Gestational Fetal Surgery: A Maternal-Fetal Sheep Model. *PLoS One*. 2016. Vol. 11, n° 1, pp. e0146563. DOI 10.1371/journal.pone.0146563. iPMID: 26752560PMCID: PMC4713870

OH, Jiwon, CHOI, Jeong Weon, AHN, Young-Ah et KIM, Sungkyoon, 2018. Pharmacokinetics of bisphenol S in humans after single oral administration. *Environment International*. 2018. Vol. 112, pp. 127-133. DOI 10.1016/j.envint.2017.11.020. PMID: 29272776

PARDI, Giorgio et CETIN, Irene, 2006. Human fetal growth and organ development: 50 years of discoveries. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. avril 2006. Vol. 194, n° 4, pp. 1088-1099. DOI 10.1016/j.ajog.2005.12.056. PMID: 16580300

PHILIPS, Elise M., JADDOE, Vincent W. V., ASIMAKOPOULOS, Alexandros G., KANNAN, Kurunthachalam, STEEGERS, Eric A. P., SANTOS, Susana et TRASANDE, Leonardo, 2018. Bisphenol and phthalate concentrations and its determinants among pregnant women in a population-based cohort in the Netherlands, 2004-5. *Environmental Research*. 2018. Vol. 161, pp. 562-572. DOI 10.1016/j.envres.2017.11.051. PMID: 29245124PMCID: PMC5820024

ROCHESTER, Johanna R. et BOLDEN, Ashley L., 2015. Bisphenol S and F: A Systematic Review and Comparison of the Hormonal Activity of Bisphenol A Substitutes. *Environmental Health Perspectives*. juillet 2015. Vol. 123, n° 7, pp. 643-650. PMID: 25775505PMCID: PMC4492270

ROELOFS, Maarke J. E., VAN DEN BERG, Martin, BOVEE, Toine F. H., PIERSMA, Aldert H. et VAN DUURSEN, Majorie B. M., 2015. Structural bisphenol analogues differentially target steroidogenesis in murine MA-10 Leydig cells as well as the glucocorticoid receptor. *Toxicology*. 2 mars 2015. Vol. 329, pp. 10-20. PMID: 25576683

ROSENMAI, Anna Kjerstine, DYBDAHL, Marianne, PEDERSEN, Mikael, ALICE VAN VUGT-LUSSENBURG, Barbara Medea, WEDEBYE, Eva Bay, TAXVIG, Camilla et VINGGAARD, Anne Marie, 2014. Are structural analogues to bisphenol a safe alternatives? *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology*. mai 2014. Vol. 139, n° 1, pp. 35-47. DOI 10.1093/toxsci/kfu030. PMID: 24563381

RUDOLPH, A. M., 1985. Distribution and regulation of blood flow in the fetal and neonatal lamb. *Circulation Research*. décembre 1985. Vol. 57, n° 6, pp. 811-821. PMID: 3905044

RURAK, D. W., WRIGHT, M. R. et AXELSON, J. E., 1991. Drug disposition and effects in the fetus. *Journal of Developmental Physiology*. janvier 1991. Vol. 15, n° 1, pp. 33-44. PMID: 1678754

SAMMIN, D., MARKEY, B., BASSETT, H. et BUXTON, D., 2009. The ovine placenta and placentitis-A review. *Veterinary Microbiology*. 16 mars 2009. Vol. 135, n° 1-2, pp. 90-97. DOI 10.1016/j.vetmic.2008.09.054. PMID: 18980813

SKLEDAR, Darja Gramec, SCHMIDT, Jan, FIC, Anja, KLOPČIČ, Ivana, TRONTELJ, Jurij, DOLENC, Marija Sollner, FINEL, Moshe et MAŠIČ, Lucija Peterlin, 2016. Influence of metabolism on endocrine activities of bisphenol S. *Chemosphere*. août 2016. Vol. 157, pp. 152-159. PMID: 27213244

TEEGUARDEN, Justin G., TWADDLE, Nathan C., CHURCHWELL, Mona I. et DOERGE, Daniel R., 2016. Urine and serum biomonitoring of exposure to environmental estrogens I: Bisphenol A in pregnant women. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*. juin 2016. Vol. 92, pp. 129-142. DOI 10.1016/j.fct.2016.03.023. PMID: 27038865

TOUTAIN, P. L. et BOUSQUET-MÉLOU, A., 2004. Plasma terminal half-life. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. décembre 2004. Vol. 27, n° 6, pp. 427-439. DOI 10.1111/j.1365-2885.2004.00600.x. PMID: 15601438

TUCKER, Deirdre K., HAYES BOUKNIGHT, Schantel, BRAR, Sukhdev S., KISSLING, Grace E. et FENTON, Suzanne E., 2018. Evaluation of Prenatal Exposure to Bisphenol Analogues on Development and Long-Term Health of the Mammary Gland in Female Mice. *Environmental Health Perspectives*. 2018. Vol. 126, n° 8, pp. 087003. DOI 10.1289/EHP3189. PMID: 30102602PMCID: PMC6108869

ULLAH, Asad, PIRZADA, Madeeha, JAHAN, Sarwat, ULLAH, Hizb, SHAHEEN, Ghazala, REHMAN, Humaira, SIDDIQUI, Mariyam Fatima et BUTT, Maisra Azhar, 2018. Bisphenol A and its analogs bisphenol B, bisphenol F, and bisphenol S: Comparative in vitro and in vivo

studies on the sperms and testicular tissues of rats. *Chemosphere*. octobre 2018. Vol. 209, pp. 508-516. DOI 10.1016/j.chemosphere.2018.06.089. PMID: 29940534

ULLAH, Hizb, JAHAN, Sarwat, AIN, Qurat Ul, SHAHEEN, Ghazala et AHSAN, Nida, 2016. Effect of bisphenol S exposure on male reproductive system of rats: A histological and biochemical study. *Chemosphere*. juin 2016. Vol. 152, pp. 383-391. PMID: 26994432

VIÑAS, René, GOLDBLUM, Randall M. et WATSON, Cheryl S., 2013. Rapid estrogenic signaling activities of the modified (chlorinated, sulfonated, and glucuronidated) endocrine disruptor bisphenol A. *Endocrine Disruptors*. 1 octobre 2013. Vol. 1, n° 1, pp. e25411. DOI 10.4161/endo.25411.

VIÑAS, René et WATSON, Cheryl S., 2013. Bisphenol S disrupts estradiol-induced nongenomic signaling in a rat pituitary cell line: effects on cell functions. *Environmental Health Perspectives*. mars 2013. Vol. 121, n° 3, pp. 352-358. PMID: 23458715PMCID: PMC3621186

VÖLKEL, Wolfgang, COLNOT, Thomas, CSANÁDY, György A., FILSER, Johannes G. et DEKANT, Wolfgang, 2002. Metabolism and kinetics of bisphenol a in humans at low doses following oral administration. *Chemical Research in Toxicology*. octobre 2002. Vol. 15, n° 10, pp. 1281-1287. PMID: 12387626

WU, Liu-Hong, ZHANG, Xue-Mei, WANG, Fei, GAO, Chong-Jing, CHEN, Da, PALUMBO, Jillian R., GUO, Ying et ZENG, Eddy Y., 2018. Occurrence of bisphenol S in the environment and implications for human exposure: A short review. *Science of The Total Environment*. février 2018. Vol. 615, pp. 87-98. DOI 10.1016/j.scitotenv.2017.09.194.

YAMAMOTO, Jun, MINATOYA, Machiko, SASAKI, Seiko, ARAKI, Atsuko, MIYASHITA, Chihiro, MATSUMURA, Toru et KISHI, Reiko, 2016. Quantifying bisphenol A in maternal and cord whole blood using isotope dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry and maternal characteristics associated with bisphenol A. *Chemosphere*. décembre 2016. Vol. 164, pp. 25-31. DOI 10.1016/j.chemosphere.2016.08.001. PMID: 27573212

YE, Xiaoyun, WONG, Lee-Yang, KRAMER, Josh, ZHOU, Xiaoliu, JIA, Tao et CALAFAT, Antonia M., 2015. Urinary Concentrations of Bisphenol A and Three Other Bisphenols in Convenience Samples of U.S. Adults during 2000-2014. *Environmental Science & Technology*. 6 octobre 2015. Vol. 49, n° 19, pp. 11834-11839. DOI 10.1021/acs.est.5b02135. PMID: 26360019

ZHANG, Tao, SUN, Hongwen et KANNAN, Kurunthachalam, 2013. Blood and urinary bisphenol A concentrations in children, adults, and pregnant women from china: partitioning between blood and urine and maternal and fetal cord blood. *Environmental Science & Technology*. 7 mai 2013. Vol. 47, n° 9, pp. 4686-4694. DOI 10.1021/es303808b. PMID: 23506159

ZHOU, Xiaoliu, KRAMER, Joshua P., CALAFAT, Antonia M. et YE, Xiaoyun, 2014. Automated on-line column-switching high performance liquid chromatography isotope dilution tandem mass spectrometry method for the quantification of bisphenol A, bisphenol F, bisphenol S, and 11 other phenols in urine. *Journal of Chromatography B*. 1 janvier 2014. Vol. 944, pp. 152-156. DOI 10.1016/j.jchromb.2013.11.009.

Nom : BOUCCARA

Prénom : Léa

Titre : DOIT-ON REMPLACER LE BISPHENOL A PAR LE BISPHENOL S ? EVALUATION TOXICO-CINETIQUE DU BPS DANS L'UNITE MATERNO-FOETOPLACENTAIRE CHEZ LA BREBIS.

Résumé :

Le Bisphénol S (BPS) est largement utilisé comme substitut du Bisphénol A (BPA) et l'exposition humaine au BPS est désormais ubiquitaire. Or, le BPS, à l'instar du BPA, présente un potentiel perturbateur endocrinien, ce qui soulève la question du risque lié à une exposition fœtale au BPS pour la santé humaine. Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est d'évaluer l'exposition fœtale à cette molécule. L'étude toxicocinétique réalisée sur le modèle du fœtus ovin a ainsi montré un faible transfert materno-fœtal du BPS, environ dix fois inférieur à celui du BPA. Cependant, le BPS et son principal métabolite, le BPS glucuronide, sont lentement éliminés du compartiment fœtal en raison d'un passage placentaire fœto-maternel du BPS limité et de la faible vitesse de réactivation du BPSG en BPS. Il en résulte une exposition fœtale au BPS similaire à celle du BPA, lors d'exposition maternelle répétée.

Mots-clefs : Bisphénol S, exposition fœtale, perturbateur endocrinien, toxico-cinétique, passage placentaire, substitut du Bisphénol A.

Title : IS BISPHENOL S A GOOD ALTERNATIVE TO BISPHENOL A ? TOXICOKINETIC INVESTIGATIONS IN THE OVINE MATERNO-FETO-PLACENTAL UNIT.

Abstract :

Bisphenol S (BPS) is widely used as a substitute for Bisphenol A (BPA) and human exposure to BPS is now ubiquitous. However, BPS, like BPS, displays an endocrine disrupting potential, raising the issue of the risk of fetal exposure to BPS for human health. In this context, the objective of this study was to evaluate the fetal exposure to BPS. A toxicokinetic study carried out on the model of the ovine fetus showed that the materno-fetal transfer of BPS was weak and about ten times lower than that of BPA. However, BPS and its major metabolite, BPS glucuronide, were slowly eliminated from the fetal compartment because of the limited fœto-maternal placental transfer of BPS and of the low rate of reactivation of BPSG to BPS. This results in fetal exposure to BPS similar to BPA for repeated maternal exposure.

Keywords : Bisphenol S, fetal exposure, endocrine disruptor, toxicokinetic, placental transfer, Bisphenol A substitute.