



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

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

This is an author-deposited version published in : [http://oatao.univ-toulouse.fr/
Eprints ID : 6264](http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints/ID%206264)

To cite this version :

Ruiz, Nicolas. *Utilisation du chien comme modèle d'étude de l'exposition interne humaine au Bisphénol A et de ses facteurs de variation*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2012, 79 p.

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

UTILISATION DU CHIEN COMME MODÈLE D'ÉTUDE DE L'EXPOSITION INTERNE HUMAINE AU BISPHÉNOL A ET DE SES FACTEURS DE VARIATION

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

par

Nicolas RUIZ

Né, le 26 Août 1984 à SAINT MARTIN D'HÈRES (38)

Directeur de thèse : Mme Véronique GAYRARD

JURY

PRESIDENT :
M. Jean PARINAUD

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :
Mme Véronique GAYRARD
Mme Nicole HAGEN-PICARD

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

MEMBRE INVITE
Mme Catherine VIGUIE

Docteur Vétérinaire

**Ministère de l'Agriculture et de la Pêche
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE**

Directeur : M. A. MILON

Directeurs honoraires : M. G. VAN HAVERBEKE.
M. P. DESNOYERS

Professeurs honoraires :

M. L. FALIU	M. J. CHANTAL	M. BODIN ROZAT DE MENDRES NEGRE
M. C. LABIE	M. JF. GUELFY	M. DORCHIES
M. C. PAVAU	M. EECKHOUTTE	
M. F. LESCURE	M. D.GRIESS	
M. A. RICO	M. CABANIE	
M. A. CAZIEUX	M. DARRE	
Mme V. BURGAT	M. HENROTEAUX	

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires*
M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
M. **FRANZ Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 1^o CLASSE

M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 2^o CLASSE

Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*

- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
 M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
 M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
 M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
 M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
 M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
 Mme **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

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

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
 M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
 Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
 Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
 M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
 Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
 M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
 M **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants.*
 Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
 Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
 M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
 Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
 Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
 Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
 M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
 M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
 M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
 M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
 Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*
 M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
 M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
 Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
 M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
 M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
 M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
 M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
 Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
 M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
 M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
 Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
 Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
 Mme **TROEGELER-MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
 M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie (disponibilité à cpt du 01/09/10)*
 M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS

- M. **BOURRET Vincent**, *Microbiologie et infectiologie*
 M. **DASTE Thomas**, *Urgences-soins intensifs*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*

M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie*

Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*

Mlle **PASTOR Mélanie**, *Médecine Interne*

M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales*

Mlle **TREVENNEC Karen**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*

M **VERSET Michaël**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

A Monsieur le Professeur Jean PARINAUD

De la faculté de médecine de Toulouse,

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

Hommages respectueux.

A Mme le Professeur Véronique GAYRARD-TROY

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Qui nous a fait l'honneur d'être notre directrice de thèse,

Pour m'avoir confié cette étude, ainsi que pour votre aide précieuse dans la réalisation des manipulations et dans la rédaction de cette thèse,

Sincères reconnaissances.

A Mme le Professeur Nicole HAGEN-PICARD

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Qui nous a fait l'honneur d'accepter d'être membre de notre jury de thèse,

Pour votre aide lors des manipulations et votre bonne humeur,

Un grand merci.

A ma mère,

Pour m'avoir toujours poussé à ne jamais perdre de vue à quel point je suis fait pour ce métier. Si j'en suis arrivé là aujourd'hui c'est grâce à toi et ta foi indéfectible en moi. Tu as su me remotiver quand j'ai tout abandonné et je pense que je ne pourrai jamais te remercier autant que je le voudrais. Tu es la plus extraordinaire des mères, et sache que j'ai la plus grande estime pour toi.

Merci à toi aussi Philippe de veiller sur elle comme tu le fais et d'être aussi agréable.

A mon père,

Pour m'avoir soutenu tout le long de cette grande route qui m'a amené à devenir Vétérinaire. Tu n'as jamais cessé de croire en moi, de t'inquiéter de ma réussite et tu as toujours été là pour moi quand j'en ai eu vraiment besoin. Tu es un père plus que formidable et une personne que j'estime énormément.

Merci à toi aussi Vivianne d'être aussi altruiste et gentille. Tu es une belle mère absolument géniale !

A mon frère Mica,

Toi qui es parti vivre chez les parisiens, je pense que tu n'imagines pas à quel point tu me manques.... Ce qui est certain, c'est que nous avons tous les deux trouvé notre vocation. Je suis tellement fier de toi ! Merci d'avoir sans cesse cru en moi, tu es un frère exceptionnel...

A Aude,

L'amour de ma vie. Depuis que nos routes se sont croisées il y a 2 ans et demi je me répète sans cesse que je suis l'homme le plus chanceux qui puisse exister. Merci de partager ma vie, de croire en moi bien plus que je ne le fais, de me redonner sans cesse le moral, et de m'aimer comme tu le fais. Je pense que tu n'as pas idée de l'estime et de la force des sentiments que j'ai pour toi. Je t'aime plus que tout...

A mes grands parents,

Papy et Mamie, je sais que vous aussi vous n'avez jamais douté de moi et que vous attendiez ce jour avec impatience. Merci d'être aussi attentifs et soucieux. Merci à toi aussi Maguy d'être là pour t'occuper de ce grand têtù !

Pépé, Mémé, vous êtes partis avant même que je me lance dans cette grande aventure, j'aurais tellement voulu que vous voyiez ça. Je sais que vous gardez un œil sur moi de là haut, vous me manquez...

A mes beaux parents,

Jean Marc et Adèle, pour m'avoir accueilli à bras ouverts et parce qu'avec vous j'ai l'impression d'être à la maison. Vous êtes un véritable exemple d'altruisme et de gentillesse ! Merci pour tout ce que vous faites sans arrêt pour nous et nos petits tracas.

A Rémi et sa femme Fanny,

Pour les soirées débauches à Montpellier, les battles à 5h du matin et votre accueil toujours chaleureux. Je vous souhaite plein de bonheur pour votre toute nouvelle famille.

A Benoît,

Parce que tu m'as aidé à réussir. Parce que tu as su faire ressortir le potentiel que je gardais profondément en moi. Parce que tu es un véritable ami et tout simplement pour ta joie de vivre et ta facilité à la transmettre, merci. Je vous souhaite à toi et toute ta petite famille le plus grand bonheur.

A la Fusion,

Guigui, Jo, Rom, Steph et leurs chéries Cécé, Marion, Alex et Mag. Parce que ça fait plus de 10 ans que ça dure et qu'on reste toujours aussi soudés. J'ai tellement de souvenirs incroyables avec vous... Merci pour tous les délires, les soirées, les LAN, les jours de l'an à thème, les fêtes de Bayonne et tous ces instants passés avec vous qui sont à chaque fois exceptionnels. J'aimerais tellement qu'on se voit plus souvent !

A Jojo et Olivier,

Mes éternels potes de Montpel. Merci pour toutes les excellentes soirées que j'ai passé avec vous que ce soit en prépa ou en dehors, pour les barbeuc porc-patate, pour les dégustations de vins, pour les sorties rivière, et pour toutes les balades dans l'Hérault. Jojo, merci de m'avoir présenté Aude...

A tous mes amis vetos,

Avec qui j'ai vécu des moments irremplaçables, de nos brimades de poulot jusqu'au match de beer pong a plus de 300 verres. Marion, Brouty, Belouche, Alex, Ju, Stouf, Coust, Sandra, Bodow, Matthieu, Robin, Julie, Elsa, Mel, Steph et bien d'autres encore, merci pour tous ces petits moments magiques que ce soit en clinique ou au cercle, je ne les oublierai jamais... Merci à toi Antoine pour toutes les fois où tu t'es occupé de Zako et pour ta gentillesse.

A mes poulots de week-end,

Thibaut, Bertrand, David, Maroussia, Manon, Iris, Amelia, Chloé, Geoffrey, Fanny, Marie, Audrey, Emilie. Vous allez me manquer, mais le lien qui nous unit est indestructible, vous êtes géniaux et je sais que vous allez assurer comme des bêtes.

Au Dr Chambon de la Clinique du Père Louvat à Voiron,

Qui m'a fait découvrir ce métier et m'a transmis toute la passion qui l'animait. Grâce à vous j'ai trouvé ma vocation. Aujourd'hui vous n'êtes plus là, mais vous resterez à tout jamais gravé dans ma mémoire.

Enfin, une grosse pensée pour **Zak, Cali, Caouette, Popsy, Coca, Minette**, mes petites boules de poils adorées...

Sommaire

PARTIE I - Introduction	21
I.1 Introduction générale	21
I.2 Le Bisphénol A	22
1.2.1 Structure et propriétés physico-chimiques.....	22
1.2.2 Production du BPA	23
1.2.3 Utilisation du BPA.....	23
1.2.4 Données réglementaires	24
1.2.5 Mécanismes d'action et effets sur l'organisme du BPA.....	26
1.2.6 Sources de contamination environnementale	27
1.2.7 Pharmacocinétique, métabolisme, et élimination du BPA	29
1.2.8 Biosurveillance et exposition humaine au BPA	34
I.3 Contexte de l'étude et stratégie expérimentale	36
PARTIE II – Matériels et Méthodes.....	41
II.1 Matériels et Méthodes spécifiques	41
II.1.1 Etude 1 : Evaluation de l'exposition au Bisphénol A du chien en tant qu'animal sentinelle de l'exposition humaine d'origine environnementale (essai pilote).....	41
II.1.1.1 Objectifs	41
II.1.1.2 Animaux	41
II.1.1.3 Méthodologie expérimentale.....	41
II.1.1.3.1 Modalités de collecte d'informations sur le mode de vie de l'animal	41
II.1.1.3.2 Modalités de collecte des échantillons.....	43
II.1.2 Etude 2 : Evaluation de la disposition du BPA chez le chien : effet de la prise alimentaire et de l'obésité sur les paramètres pharmacocinétiques du BPA	43
II.1.2.1 Objectifs	43
II.1.2.2 Animaux	43
II.1.2.3 Produits chimiques et préparation des solutions	44

II.1.2.4 Méthodologie expérimentale.....	44
II.1.2.4.1 Plan expérimental	44
II.1.2.4.2 Modalités d'administration	45
II.1.2.4.3 Modalités de collecte des échantillons.....	45
II.1.3 Etude 3 : Evaluation du passage du BPA suite à une administration de BPA par voie sublinguale chez le chien (essai pilote)	45
II.1.3.1 Objectifs	45
II.1.3.2 Animaux	45
II.1.3.3 Matériel, produits chimiques et préparation des solutions.....	46
II.1.3.4 Méthodologie expérimentale.....	46
II.1.3.4.1 Plan expérimental	46
II.1.3.4.2 Protocole anesthésique.....	46
II.1.3.4.3 Modalités d'administration	46
II.1.3.4.4 Modalités de collecte des échantillons.....	47
II.2 Matériels et Méthodes communs aux trois études	47
II.2.1 Modalités de traitement des échantillons	47
II.2.2 Dosage du BPA et du BPA-G	47
II.2.3 Analyse pharmacocinétique	48
II.2.3.1 Analyse du BPA	48
II.2.3.2 Analyse du BPA-G.....	49
II.2.4 Analyse statistique	50
 PARTIE III – Résultats et discussions	 51
 III.1 Etude 1 : Evaluation de l'exposition au Bisphénol A du chien en tant qu'animal sentinelle de l'exposition humaine d'origine environnementale (essai pilote).....	 51
III.1.1 Enquête questionnaire préliminaire aux prélèvements	51
III.1.2 Dosage du BPA et du BPA-G dans les échantillons sanguins.....	51
III.1.3 Discussion.....	53
 III.2 Etude 2 : Evaluation de la disposition du BPA chez le chien : effet de la prise alimentaire et de l'obésité sur les paramètres pharmacocinétiques du BPA.....	 55

III.2.1 Evolution temporelle des concentrations plasmatiques en BPA et BPA-G	55
III.2.2 Paramètres pharmacocinétiques (PK) du BPA et du BPA-G en fonction de l'état d'engraissement et du statut prandial	56
III.2.3 Discussion.....	58
III.3 Etude 3 : Evaluation du passage du BPA suite à une administration de BPA par voie sublinguale chez le chien (essai pilote).....	60
III.3.1 Evolution temporelle des concentrations plasmatiques en BPA et BPA-G	60
III.3.2 Discussion.....	64
 CONCLUSION.....	 67
 Références bibliographiques	 71
 Annexe 1	 75
Annexe 2	78

Liste des abréviations

ANSES :	Agence Nationale de Sécurité Sanitaire
AUC :	Aire sous la courbe
BPA :	Bisphénol A
BPA-G :	Bisphénol A Glucuronide
Cl :	Clairance
Cl _{F_obs} :	Clairance apparente
C _{max} :	Concentration maximale
C(t) :	Concentration plasmatique en BPA au temps t
DJA :	Dose Journalière Admissible
EFSA :	European Food Safety Authority
ENVT :	Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
EPA :	Agence américaine de Protection de l'Environnement
Infloq :	Inférieur à la limite de quantification
i.v. :	Intraveineuse
LC-MS/MS :	Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse
LMS :	Limite Spécifique de Migration
LOAEL :	Lowest Observed Adverse Effect Level (plus faible dose testée ayant des effets délétères sur l'organisme)
LOQ :	Limite de quantification
MRT :	Temps de résidence moyen
NOAEL :	No Observed Adversed Effect Level (dose la plus élevée sans effet délétère observable)
PE :	Perturbateur Endocrinien
PK :	Pharmacocinétique
PPE :	Pesticides Perturbateurs Endocriniens
t _{1/2} :	Temps de demi-vie
T _{max} :	Temps nécessaire pour atteindre C _{max}
UDPGA :	Acide UDP-glucuronique

UGT : UDP-glucuronosyltransférase
Vc : Volume de distribution du compartiment central
Vss : Volume de distribution à l'équilibre

Liste des figures

. <u>Figure 1</u> : Structure du Bisphénol A.....	22
. <u>Figure 2</u> : Devenir du BPA au niveau du tractus digestif après une administration par voie orale.....	32
. <u>Figure 3</u> : Relation allométrique (log-log) entre le poids et la clairance plasmatique du BPA chez 5 espèces de mammifères (souris, rat, chien, porc et mouton) et extrapolation à l'Homme et au cheval.....	36
. <u>Figure 4</u> : Evolution des concentrations moyennes (\pm SD) en BPA au cours du temps dans le plasma de chiennes selon leur état d'engraissement (normal ou obèse) et leur statut prandial (à jeun ou non) après une administration i.v. de BPA à la dose de 10 mg/kg.....	55
. <u>Figure 5</u> : Evolution des concentrations moyennes (\pm SD) en BPA-G au cours du temps dans le plasma de chiennes selon leur état d'engraissement (normal ou obèse) et leur statut prandial (à jeun ou non) après une administration i.v. de BPA à la dose de 10 mg/kg.....	56
. <u>Figure 6</u> : Evolution de la concentration plasmatique du BPA, au cours du temps (h), après l'administration de BPA par voie sublinguale à la dose de 20 mg/kg pour le chien BS.....	62
. <u>Figure 7</u> : Evolution de la concentration plasmatique du BPA, au cours du temps (h), après l'administration de BPA par voie sublinguale à la dose de 20 mg/kg pour le chien BM	62
. <u>Figure 8</u> : Evolution de la concentration plasmatique du BPA-G, au cours du temps (h), après l'administration de BPA par voie sublinguale à la dose de 20 mg/kg pour le chien BS.....	63
. <u>Figure 9</u> : Evolution de la concentration plasmatique du BPA-G, au cours du temps (h), après l'administration de BPA par voie sublinguale à la dose de 20 mg/kg pour le chien BM	63
. <u>Figure 10</u> : Evolution de la concentration plasmatique du BPA au cours du temps (h), après l'administration de BPA par voie orale à la dose de 100 mg/kg chez le chien.....	65
. <u>Figure 11</u> : Evolution de la concentration plasmatique du BPA-G au cours du temps (h), après l'administration de BPA par voie orale à la dose de 100 mg/kg chez le chien.....	65

Liste des tableaux

. <u>Tableau 1</u> : Effets avérés ou suspectés du BPA sur l'animal et sur l'homme.....	27
. <u>Tableau 2</u> : Paramètres pharmacocinétiques du BPA obtenus à partir des données plasmatiques de BPA et de BPA-G observées après une administration i.v. de BPA à la dose de 5 mg/kg et une administration orale à la dose de 100 mg/kg chez les 5 espèces étudiées (mouton, porc, chien, rat et souris).....	30
. <u>Tableau 3</u> : Résultats de l'enquête questionnaire sur le mode et les habitudes de vie des animaux prélevés.....	51
. <u>Tableau 4</u> : Dosage du BPA et du BPA-G dans les échantillons sanguins des chiens de propriétaire	52
. <u>Tableau 5</u> : Paramètres pharmacocinétiques moyens (\pm SD) du BPA, obtenus suite à une administration intraveineuse à la dose de 10 mg/kg de BPA. (^{a,b} / ^{c,d} / ^{e,f} $P < 0,05$: les valeurs indiquées par ces couples de lettres sont significativement différentes).....	57
. <u>Tableau 6</u> : Paramètres pharmacocinétiques moyens (\pm SD) du BPA-G, obtenus suite à une administration intraveineuse à la dose de 10 mg/kg de BPA. (^{a,b} / ^{c,d} / ^{e,f} / ^{g,h} $P < 0,05$: les valeurs indiquées par ces couples de lettres sont significativement différentes).....	58
. <u>Tableau 7</u> : Valeurs des concentrations plasmatiques en BPA et BPA-G aux différents temps, après l'administration de BPA par voie sublinguale à la dose de 20 mg/kg pour le chien BS (ND = Non Détecté)	61
. <u>Tableau 8</u> : Valeurs des concentrations plasmatiques en BPA et BPA-G aux différents temps, après l'administration de BPA par voie sublinguale à la dose de 20 mg/kg pour le chien BM (ND = Non Détecté)	61

Liste des annexes

. <u>Annexe 1</u> : Questionnaire : Enquête sur l'exposition du chien au Bisphénol A	76
. <u>Annexe 2</u> : Paramètres PK du BPA et du BPA-G obtenus pour chaque animal suite à une administration de BPA par voie i.v. à la dose de 10 mg/kg	79

Liste des photos

. <u>Photo 1</u> : Précipitation du BPA sur la muqueuse sublinguale	60
---	----

Partie I - Introduction

I.1 Introduction générale

Depuis plus d'un siècle, la plasturgie s'est fortement développée et a contribué à améliorer notre confort de vie du fait de la grande adaptabilité des matières plastiques dans de nombreux domaines. Aujourd'hui, de nombreux produits provenant de cette industrie sont utilisés quotidiennement par l'homme. Or depuis une vingtaine d'années de nombreuses recherches ont été menées afin d'évaluer l'innocuité de ces produits pour la santé humaine car ils sont retrouvés de manière ubiquitaire dans notre environnement.

Parmi ces molécules, le Bisphénol A (BPA) présente un intérêt tout particulier dans les récentes recherches. Il s'agit d'une des substances chimiques les plus produites à travers le monde et qui, du fait de son utilisation dans différents types d'emballages alimentaires, compte parmi les molécules les plus étudiées depuis une dizaine d'années. Par ailleurs, il a fait récemment l'objet d'une forte médiatisation ainsi que de nombreux débats. En effet, le BPA entre dans la catégorie des perturbateurs endocriniens (PE) qui selon l'Agence américaine de Protection de l'Environnement (EPA) sont « *des agents exogènes qui interfèrent avec la production, la libération, le transport, le métabolisme, la liaison, l'action ou l'élimination des hormones naturelles responsables du maintien de l'homéostasie et de la régulation du développement de l'organisme* ». Les PE peuvent donc avoir des effets délétères sur les fonctions de l'organisme et notamment pour le BPA, qui est un œstrogénomimétique, sur la fonction de reproduction.

Les études de biosurveillance de l'exposition humaine au BPA font apparaître des incohérences. En effet, les valeurs de concentrations plasmatiques en BPA évaluées dans ces études, sont très supérieures à celles prédites à partir de la Dose Journalière Admissible (DJA) de 50µg/kg.j et de la clairance plasmatique estimée chez l'homme.

Dans ce contexte, l'objectif de cette thèse a été d'utiliser le chien comme modèle d'étude des facteurs de variations de l'exposition interne au BPA.

Une première partie sera consacrée à l'analyse bibliographique des données concernant le Bisphénol A : son utilisation dans la plasturgie, les données réglementaires, les mécanismes d'action, les effets rapportés sur l'organisme et les différentes sources de contamination humaine, mais aussi les données pharmacocinétiques, ainsi que les données de

l'exposition humaine. Nous évoquerons également le contexte et la stratégie des études expérimentales qui seront présentées dans la deuxième partie et qui avaient pour objectifs de :

- Evaluer le niveau d'exposition interne d'une population de chiens de propriétaires en utilisant cet animal de compagnie comme « sentinelle » de l'exposition humaine environnementale au BPA.

- Evaluer l'impact de la prise alimentaire ou « Effet Alimentation » ainsi que de l'obésité sur les paramètres pharmacocinétiques du BPA et notamment sur la clairance plasmatique.

- Evaluer l'absorption du BPA par voie sublinguale.

Une troisième partie sera ensuite consacrée à l'analyse des résultats obtenus.

I.2 Le Bisphénol A

I.2.1 Structure et propriétés physico-chimiques

Le Bisphénol A (BPA, 4-4'-dihydroxy-2,2-diphenylpropane, $C_{15}H_{16}O_2$), est une molécule de petite taille issue de la catalyse acide de deux phénols avec une cétone. La présence de groupements phénols, rend sa structure proche de celle des œstrogènes naturels, lui conférant ainsi une activité œstrogène-mimétique par sa capacité à se lier aux récepteurs de ces hormones (11).

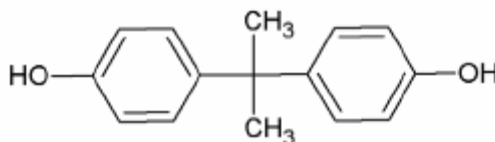


Figure 1 : Structure du Bisphénol A

Le BPA est une substance relativement lipophile et peut donc traverser les membranes cellulaires (coefficient de partage entre l'octanol et l'eau, $\log K_{ow}$, compris entre 3,32 et 3,4) (22). Les acides faibles tels que le BPA dont le pKa est supérieur à 7.5 (pKa du BPA 9.7), sont essentiellement non ionisés à toutes les valeurs physiologiques de pH (11).

I.2.2 Production du BPA

Le BPA a été synthétisé pour la première fois en 1891 par le chimiste russe Alexandre P. Dianin. Son activité oestrogénique a par la suite été décrite dans les années 1930 dans le cadre de la recherche d'oestrogènes de synthèse à visée thérapeutique.

Suite à l'abandon du projet de son utilisation comme oestrogène de synthèse, le potentiel du BPA comme monomère pour la fabrication de matériaux synthétiques a été rapidement identifié par l'industrie plasturgique.

Actuellement, le BPA est l'un des produits chimiques dont les tonnages de production sont les plus importants à travers le monde, toutes molécules confondues, avec une capacité de production mondiale qui était de 3.8 millions de tonnes par an en 2006, dont 700000 tonnes dans l'Union Européenne (données fournies par l'industrie plasturgique) (4) et de 2,2 millions de tonnes en 2009 (43). Du fait des nombreuses applications dans une large gamme de produits comme les emballages de l'industrie agro-alimentaire, l'augmentation annuelle de la production a été estimée entre 6 et 10% (11).

I.2.3 Utilisation du BPA

Le Bisphénol A est un monomère des plastiques de type polycarbonate et des résines epoxy. Les polycarbonates sont des plastiques transparents, très résistants, isolants, capables de supporter des chaleurs élevées et de se déformer sans se rompre. Ces propriétés physiques permettent donc leur utilisation dans de nombreux domaines comme l'optique (lentilles de contact, optiques de phares, vitres blindées), l'industrie agroalimentaire (bouteilles d'eau et nombreux autres emballages), l'électronique (composants informatiques), les constructions (murs insonorisants) mais aussi les supports multimédia (CDs et DVDs).

Les résines epoxy sont quand à elles utilisées comme colles ou comme revêtements. Ce sont des colles très puissantes sur de nombreux matériaux comme le bois, le verre, la porcelaine ou le métal. Une fois sèches, elles constituent un revêtement étanche, rigide, et inerte vis-à-vis de l'oxygène et des aliments. Ces propriétés sont utilisées pour les

constructions (revêtements de sols industriels, colles, revêtements intérieurs des canalisations d'eau), l'industrie agro-alimentaire (revêtement intérieur des canettes, boîtes de conserve et couvercles métalliques), l'informatique (circuits imprimés), pour l'industrie nautique (création et réparations de bateaux, planches de surf) (25).

Enfin, le BPA (dans un faible pourcentage de la production totale) est utilisé dans divers procédés de fabrication. Le BPA est ainsi utilisé dans les papiers thermiques comme révélateur de l'encre contenue dans les papiers servant à l'impression des tickets de caisse et des factures bancaires. Le BPA est également utilisé en dentisterie, dans les amalgames dentaires. Enfin, des dérivés du BPA sont également retrouvés dans une grande variété de produits soit comme antioxydant (polysulfone), comme additif ou stabilisateur des plastiques de types polychlorure de vinyle (PVC) et dans différentes résines à base de phénols et dans les retardateurs de flamme bromés (11)(25).

I.2.4 Données réglementaires

- Réglementation européenne

Du fait de ses tonnages de production, le BPA entre dans le champ de la réglementation européenne REACH (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals), concernant l'enregistrement, l'évaluation, et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances (11). Toutes les entreprises fabricantes, importatrices et/ou utilisatrices de substances chimiques sont concernées par ce règlement qui vise à évaluer et à contrôler les substances chimiques fabriquées, importées et utilisées à raison de plus d'une tonne par an sur le marché européen, afin de réduire les risques pour la santé et l'environnement liés à leurs utilisations (22).

- La Dose Journalière Admissible (DJA)

La DJA est une estimation de la quantité d'une substance exprimée sur la base du poids corporel, toutes sources d'exposition confondues, qui peut être ingérée quotidiennement pendant toute la durée d'une vie sans risque délétère pour la santé (26). Actuellement, la DJA définie par l'EFSA (European Food Safety Authority) au niveau européen et qui est donc admise en France est de 50 µg/(kg.j), celle-ci ayant été évaluée en 2006 puis confirmée en 2008, 2010 et 2011.

Cette DJA a été définie en appliquant un facteur de sécurité de 100 à la dose la plus élevée sans effet délétère observable (NOAEL) établie dans un modèle rongeur. Ce facteur de sécurité de 100 prend en compte un facteur de 10 pour l'extrapolation des données de l'animal de laboratoire à l'Homme (différences interspécifiques) et un facteur de 10 pour la prise en compte des différences inter-individuelles. La NOAEL de 5 mg/(kg.j), prise en compte par l'EFSA, a été obtenue à partir d'études toxicologiques réalisées par la même équipe sur trois générations de rats (47) et deux générations de souris (48), qui ont mis en évidence une toxicité systémique du BPA révélée par une diminution du poids corporel, du poids des organes et une toxicité hépatique pour des doses supérieures à 5 mg/(kg.j), ainsi identifiée comme la NOAEL (11)(17).

L'agence d'évaluation américaine (Food and Drug Administration (FDA)), a également utilisé les effets reprotoxiques mis en évidence dans ces mêmes études pour déterminer la LOAEL (la plus faible dose pour laquelle un effet délétère est observé) à laquelle a été appliquée un facteur de sécurité de 1000. Le facteur de sécurité de 1000 prend en compte un facteur supplémentaire de 10 pour l'extrapolation de la NOAEL à partir de la LOAEL. Ainsi, à l'heure actuelle, toutes les agences réglementaires mondiales ont fixé la DJA à 50 µg/(kg.j) (11).

En Europe, cette DJA n'a pas été remise en cause depuis son établissement, mais malgré cela, la France et le Danemark ont interdit la fabrication et la commercialisation de biberons contenant du BPA. Le Danemark a de plus étendu cette interdiction à tous les contenants destinés à l'alimentation des enfants de 0 à 3 ans (32). Pour tous les autres contenants plastiques directement en contact avec les aliments, l'utilisation de BPA est autorisée avec une Limite Spécifique de Migration (LMS : correspondant à la quantité maximale de migration de BPA à partir d'un matériau dans le milieu avec lequel il est en contact) de 0,6 mg/kg d'aliment (17). Par ailleurs, en France en Octobre 2011, les députés ont adoptés à l'unanimité une nouvelle loi qui vise à interdire le Bisphénol A dans les contenants alimentaires. Cette loi sera effective à partir de 2014 pour les contenants alimentaires, mais dès 2013 pour les contenants alimentaires de produits destinés aux enfants de moins de trois ans.

I.2.5 Mécanismes d'action et effets sur l'organisme du BPA

- Mécanismes d'action

Les effets du Bisphénol A mettent en jeu différents mécanismes, dont certains n'ont pas encore été identifiés.

Tout d'abord, le BPA est reconnu comme un agoniste faible des récepteurs aux œstrogènes α et β (ER α et ER β) et présente donc une action œstrogène-mimétique. Néanmoins, son action dans l'organisme ne va pas toujours être identique à celle de l'oestradiol. En fonction du tissu, son action pourra être agoniste ou antagoniste. Ainsi, le BPA a une activité obligatoirement agoniste des œstrogènes quand il agit sur le récepteur ER β , et une activité mixte (agoniste ou antagoniste selon les cas) lorsqu'il agit via le récepteur ER α (30).

Par ailleurs, un nombre croissant d'études *in vitro* ou moléculaires suggère que l'interprétation des effets toxicologiques du BPA ne peut se limiter à un mécanisme œstrogénique classique. En effet, le BPA pourrait également interagir avec d'autres récepteurs cellulaires tels que le récepteur aux androgènes AR et entraîner un effet anti-androgénique modéré, mais aussi le récepteur des hydrocarbures aromatiques (AhR), le récepteur transmembranaire des œstrogènes, les récepteurs des hormones thyroïdiennes et également le récepteur transmembranaire GPR30 impliqué dans la prolifération cellulaire.

Par conséquent, une interprétation des effets du BPA uniquement sous l'angle d'un effet œstrogène-mimétique serait réducteur. Enfin, des mécanismes d'action autres que ceux passant par des liaisons à des récepteurs hormonaux sont également évoqués, tels que l'activation de l'expression de certains gènes au niveau embryonnaire, ou la modulation de systèmes de second messenger (22)(18).

- Effets sur l'organisme

De nombreuses études ont été réalisées chez l'animal mais également chez l'homme afin de mieux comprendre les effets du Bisphénol A sur l'organisme. Afin de juger la pertinence et d'interpréter la diversité des résultats fournis par ces multiples études, un comité d'experts spécialisés a été sollicité par l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire (ANSES) et a publié un rapport en Septembre 2011 concernant les effets sanitaires du Bisphénol A (22). Dans son rapport sur l'évaluation des risques sanitaires liés au BPA, le comité a pris en

compte les résultats de travaux d'expertises et de recherche publiés avant Janvier 2011 et a permis de conclure sur la présence d'effets « avérés » chez l'animal mais seulement « suspectés » chez l'homme (Tableau 1).

« Avérés » chez l'animal
L'augmentation de la survenue de kystes ovariens lors d'expositions pré et postnatales.
Les modifications hyperplasiques de l'endomètre lors d'expositions pré et postnatales.
L'avancement de l'âge de la puberté lors d'expositions pré et post-natales.
L'altération de la production spermatique (diminution) lors d'expositions à l'âge adulte.
Les modifications histologiques sur la neurogenèse lors d'expositions pré ou périnatale.
Les effets sur la lipogenèse suite à une exposition prénatale, périnatale ou à l'âge adulte.
Les effets sur la glande mammaire : accélération de la maturation architecturale de la glande mammaire à l'âge adulte et développement de lésions hyperplasiques intra-canalaires en lien avec une exposition pré ou périnatale au BPA.
« Suspectés » chez l'Homme
Effets sur la maturation ovocytaire chez la femme dans un contexte de procréation médicalement assistée.
Effets sur les pathologies cardiovasculaires (maladies coronariennes) et le diabète.

Tableau 1 : Effets avérés ou suspectés du BPA sur l'animal et sur l'homme (22)

I.2.6 Sources de contamination environnementale

Le BPA, qui est exclusivement d'origine anthropique, est omniprésent dans notre environnement. L'exposition humaine au BPA a lieu uniquement depuis des sources environnementales que ce soit par ingestion, inhalation (poussières...) ou par contact cutané.

On estime que l'exposition journalière humaine, pour un adulte, est comprise entre 0.06 et 1.5µg/kg par jour (18).

- Contamination par ingestion

Quatre vingt dix neuf pour cent de la contamination humaine par le BPA se fait par ingestion (36). Cette contamination serait le fait d'un passage du BPA dans la chaîne alimentaire, soit par la libération de monomères suite à une polymérisation incomplète, ou à une hydrolyse de la chaîne ester qui lie les monomères de BPA, dans des conditions de pH neutre ou alcalin, ou au contact de liquides à haute température (5).

Ainsi, il est possible de retrouver dans des aliments du BPA provenant de leur contenant. Les études réalisées afin d'évaluer ce risque ont montré des concentrations en BPA dans ces aliments (majoritairement des conserves dont les revêtements internes contiennent du Bisphénol A) d'une valeur bien inférieure à la LMS. De plus, les variations de contamination observées entre les aliments seraient liées à des différences dans le processus de fabrication, les résines utilisées et le type d'aliment (6). Il semblerait par ailleurs que cette concentration augmente avec la durée et la température de stockage, mais aussi en fonction de la température de stérilisation de la conserve (21).

La contamination par l'ingestion de liquide (eau, boisson gazeuses, ...) a également été rapportée et les études ont montré le même type de relation entre la concentration de BPA dans la boisson et la température à laquelle se trouve le contenant. A titre d'exemple, les concentrations de BPA dans l'eau stockée dans un contenant en polycarbonate augmentent de 0.12 ng/mL à 40°C à 1.77 ng/mL à 60°C.

Enfin, une exposition orale non liée à la consommation d'aliments a également été décrite à partir des dérivés du BPA utilisés en dentisterie dans les amalgames dentaires. Ces dérivés entraîneraient une exposition au BPA par la salive sur une courte durée après la pose des amalgames (20).

- Contamination par inhalation

L'exposition au BPA par inhalation de poussières est limitée par ses propriétés physico-chimiques (taille des particules, faible pression de vapeur à température ambiante). Cependant, plusieurs études ont suggéré qu'il pouvait y avoir une exposition de la population humaine au BPA par l'inhalation de poussières intérieures et/ou extérieures.

Les études rapportant les concentrations en BPA dans les échantillons de poussières ménagères montrent des résultats très variables, avec des valeurs comprises entre 60 et 843 ng/g. En supposant que l'absorption à partir du tractus respiratoire soit complète, un adulte de 60 kg qui inhale 50 mg de poussière contenant 843 ng/g serait exposé à 0.70 ng/(kg.j) de BPA par inhalation, soit une dose très inférieure à la DJA.

Ce résultat est conforté par une étude réalisée sur une population d'enfants âgés de 2.5 à 5 ans aux Etats-Unis qui indique que le BPA contenu dans l'air inhalé ne contribuerait qu'à 1 % de l'exposition totale au BPA (56)(34), nous permettant ainsi de considérer l'exposition humaine par inhalation comme minoritaire.

- Contamination par voie cutanée

Suite à l'apparition de dermatites de contact allergiques chez les ouvriers de l'industrie plasturgique, et en raison de la large utilisation des papiers thermiques dans la vie quotidienne, la possibilité d'une exposition au BPA par contact a récemment été envisagée. Une étude (3) concernant cette voie d'exposition a confirmé la présence de BPA dans 80 % des papiers thermiques et a estimé que l'exposition externe maximale par cette voie était de 71µg/jour (35) ce qui correspond à 2% de la DJA pour un homme d'environ 70kg.

Du BPA a également été retrouvé sur les billets de banque de 21 pays et une étude a montré que les concentrations en BPA dans les billets augmentent de façon spectaculaire lorsqu'ils sont placés au contact de papier thermique comme les reçus/tickets dans les portefeuilles (33).

Les données fournies par la littérature montrent que l'absorption cutanée du BPA varie de 10 à 60% (35). L'utilisation du modèle de peau d'oreille de porc pour la caractérisation de l'absorption cutanée a permis de mettre en évidence, en plus d'une forte absorption par cette voie (60%), un important métabolisme du BPA suite au passage transcutané (58).






Ainsi, il a récemment été estimé que l'exposition cutanée contribuerait significativement à l'exposition totale au BPA de la population générale, mais en restant tout de même une voie de contamination minoritaire.

I.2.7 Pharmacocinétique, métabolisme, et élimination du BPA

- Propriétés pharmacocinétiques du Bisphénol A

Les données pharmacocinétiques du BPA ont fait l'objet de nombreuses publications chez différentes espèces (souris, rat, singe cynomolgus, chimpanzé et Homme) après différentes voies d'administration et à différents stades physiologiques (gestation, lactation,...). La littérature permet de trouver une estimation de la clairance du BPA chez l'Homme grâce à des études réalisées sur les animaux de laboratoire via deux approches : une approche allométrique et une approche basée sur un modèle physiologique-pharmacocinétique. Les résultats obtenus par ces deux méthodes sont équivalents avec une clairance plasmatique du BPA de 30 et 28 mL/(kg.min) respectivement pour l'approche allométrique et le modèle physiologique-pharmacocinétique (8)(40).

Plus récemment, dans le cadre d'une thèse universitaire, l'équipe « Pesticides Perturbateurs Endocriniens » (PPE) de l'UMR 1331 à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (ENVT) s'est attachée à évaluer la pharmacocinétique du BPA après une administration intraveineuse (i.v.) et orale de BPA chez cinq espèces de mammifères (canidés, suidés, rongeurs (rats, souris) et bovidés) (11). Les paramètres pharmacocinétiques moyens obtenus après une administration i.v. et une administration orale, aux doses respectives de 5 et 100 mg/kg de BPA sont présentés dans le Tableau 2 suivant :

Paramètres (unités)	 Mouton Moy ±SD	 Porc Moy ±SD	 Chien Moy ±SD	 Rat Moy ±SE	 Souris Moy ±SE
AUC _{BPA,i.v.} (µmol. h/L)	15.6 ±4.8	7.1 ±2.2	12.6 ±1.1	5.6 ±0.4	5.8 ±0.5
AUC _{BPA-G,i.v.} (µmol. h/L)	79.2 ±16.1	45.0 ±9.3	69.5 ±14.8	10.8 ±1.25	9.2 ±1.4
Rapport AUC _{BPA-G,i.v.} / AUC _{BPA,i.v.}	5.0	6.3	5.5	1.9	1.6
AUC _{BPA,orale} (µmol. h/L)	2.6 ±1.3	0.8 ±1.4	2.8 ±1.5	3.4 ±0.5	7.0 ±2.0
AUC _{BPA-G,orale} (µmol. h/L)	1765.1 ±388.2	576.5 ±119.4	1050.4 ±156.3	145.8 ±24.4	402.4 ±65.5
Rapport AUC _{BPA-G,orale} / AUC _{BPA,orale}	678.9	720.6	375.1	42.9	57.5
Cl _{BPA} (mL/(kg.min))	25.0 ±6.5	56.4 ±19.5	29.2 ±2.7	64.2	54.0
t _{1/2} , BPA (h)	1.3 ±0.6	1.9 ±3.2	0.9 ±0.7	3.0	9.1
Cl/F _{BPA-G} (mL/(kg.min))	8.4 ±1.5	14.4 ±2.7	8.8 ±1.6	1.7	18.0
t _{1/2} , BPA-G (h)	5.0 ±2.3	5.2 ±5.9	9.7 ±7.8	24.5	6.8

AUC : aire sous la courbe des concentrations plasmatiques, Cl : clairance, Cl/F : clairance apparente, t_{1/2} : temps de demi-vie plasmatique terminale, MRT : temps moyen de résidence

Tableau 2 : Paramètres pharmacocinétiques du BPA obtenus à partir des données plasmatiques de BPA et de BPA-G observées après une administration i.v. de BPA à la dose de 5 mg/kg et une administration orale à la dose de 100 mg/kg chez les 5 espèces étudiées (mouton, porc, chien, rat et souris) (11).

- Métabolisme du BPA

Le métabolisme du BPA est dominé par les réactions enzymatiques de conjugaison dites de phase II qui consistent à ajouter un groupement généralement hydrosoluble (acide glucuronique, dérivés sulfatés...) au composé parent. Ces réactions sont principalement hépatiques mais peuvent aussi avoir lieu par exemple au niveau intestinal.

La principale réaction décrite est la glucuronidation qui correspond à la formation d'un composé β-glucuroconjugué, le BPA-glucuronide (BPA-G) à partir du BPA et d'un cofacteur, l'acide UDP-glucuronique (UDPGA).

Cette réaction est catalysée par les UDP-glucuronosyltransférases (ou UGTs) qui sont des enzymes présentes majoritairement dans le foie mais qui sont également retrouvées

dans de nombreux autres tissus dont l'intestin et le placenta. L'utilisation d'un modèle de segments intestinaux inversés de rat a permis de montrer que *ex vivo* 83 % du BPA absorbé est glucurono-conjugué lors de son passage à travers les entérocytes de la paroi intestinale (27).

Le BPA-G ne peut pas se fixer aux récepteurs des œstrogènes (ER) et ne possède donc pas d'activité oestrogénique (12). Le métabolisme de biotransformation du BPA en BPA-G représente donc un mécanisme de détoxification de l'organisme, qui s'avère par ailleurs rapide puisque le temps de demi-vie du BPA est de l'ordre de 1 à 2 heures (sauf pour les rongeurs pour lesquels il est supérieur à 3 heures).

La sulfo-conjugaison du BPA a été décrite *in vitro* chez différentes espèces, mais les sulfo-conjugués sont présents en quantité minoritaire par rapport aux glucurono-conjugués (11).

- Absorption, biodisponibilité par voie orale et effet de premier passage hépatique

Etant donné les propriétés physico-chimiques du BPA, après une administration orale, celui-ci est probablement transporté par diffusion passive à travers la paroi du tractus gastro-intestinal vers les veines mésentériques jusqu'à la circulation porte hépatique. En tant qu'acide faible, le BPA (sous forme non ionisée au pH intestinal) peut facilement être absorbé à partir de l'estomac et des parties hautes de l'intestin grêle, où il peut également être glucuronoconjugué. Les études réalisées par l'équipe PPE de l'UMR 1331 (11) ont montré que la totalité du BPA administré par voie orale est absorbé au niveau du tractus digestif pour le mouton, la souris, le rat, le porc et le chien.

Chez toutes les espèces étudiées, la biodisponibilité du BPA par voie orale est faible, elle a été estimée entre 2.8 et 16.4 % chez le rat (13)(57) et à 0.94 % chez le singe rhésus (15). Cette faible biodisponibilité par voie orale a également été constatée dans l'évaluation des différences interspécifiques de pharmacocinétique du BPA et du BPA-G réalisée à l'ENVT (11) avec une biodisponibilité de 1 à 2%.

Dans un tel cas de figure, une faible biodisponibilité peut être liée à un défaut d'absorption (solubilité et/ou perméabilité du BPA) ou à un fort effet de premier passage (Figure 2). Or, comme présenté précédemment, l'absorption gastro-intestinale du BPA semble rapide et complète chez toutes les espèces qui ont été étudiées, ce qui oriente l'explication d'une faible biodisponibilité par un fort effet de premier passage hépatique. Cette hypothèse a

été confirmée par une approche modélisatrice permettant de montrer que plus de 90 % du BPA absorbé au niveau du tractus digestif subit cet effet de premier passage (11).

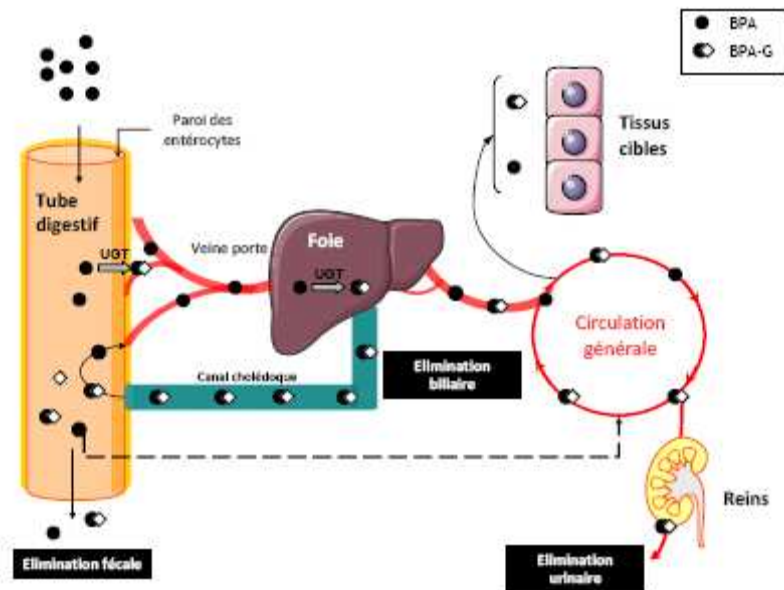


Figure 2 : Devenir du BPA au niveau du tractus digestif après une administration par voie orale (11)

Après l'administration de BPA par voie orale, ce dernier franchit la barrière intestinale et une fraction peut être glucuroconjuguée dans les entérocytes. Au niveau hépatique, le BPA subit un fort effet de premier passage hépatique, *i.e.* une métabolisation au cours de son passage dans le foie. Le BPA-G plus hydrophile que le BPA peut être éliminé dans la bile *via* un transport actif, ou bien rejoindre la circulation générale, à partir de laquelle il sera éliminé dans les urines. Lorsque le BPA-G est sécrété dans la bile, il est conduit par le canal cholédoque pour être déversé dans les parties distales du tube digestif. Une fois dans le tube digestif, la BPA-G peut être hydrolysé en BPA par des bactéries intestinales possédant une activité β -glucuronidase et être réabsorbé ou bien éliminé dans les fèces. Le BPA réabsorbé dans les parties distales du tube digestif non drainées par le système porte pourrait échapper au métabolisme hépatique (11).

UGT : UDP-glucuronosyltransférase ; ● BPA : bisphénol A ; ●◊ BPA-G : bisphénol A-glucuronide

- Elimination du BPA et du BPA-G

Chez l'Homme, les études publiées suggèrent que le BPA est rapidement métabolisé et éliminé de manière complète dans les urines dans les heures qui suivent son entrée dans l'organisme. La clairance du BPA-G a été estimée de l'ordre de 2.16 mL/(kg.min) soit équivalente au débit de filtration glomérulaire, suggérant une élimination du BPA-G par simple filtration rénale chez l'Homme (54)(53).

Chez le rat, contrairement à l'homme, seulement 20 à 40 % du BPA administré par voie orale seraient éliminés dans les urines sous la forme conjuguée (BPA-G), la majeure partie de la dose étant excrétée dans les fèces sous la forme de BPA (44), suggérant alors l'existence d'une autre voie d'élimination du BPA que celle décrite chez l'Homme. Ainsi, une étude dans un modèle de foie de rat perfusé *ex vivo*, a mis en évidence une élimination biliaire du BPA-G chez cette espèce. Cette étude, a montré que suite à une administration de BPA

dans la veine porte, ce dernier est intensément glucuronidé au niveau hépatique (91 %) et que 65 % du BPA-G formé est éliminé dans la bile contre 35 % qui rejoignent les veines sus-hépatiques (28).

Chez les excréteurs biliaires, plus la substance a un poids moléculaire élevé, plus l'élimination biliaire sera favorisée par rapport à l'élimination urinaire. D'après la littérature, pour les anions organiques tels que les glucuronoconjugués, le poids moléculaire seuil à partir duquel l'élimination biliaire est possible, est de l'ordre 200-300 g/mol chez le rat, 400 g/mol chez le cobaye, 475 g/mol chez le lapin et 500-600 g/mol chez l'Homme. Ainsi, en raison de son poids moléculaire (404 g/mol), le BPA-G serait principalement éliminé dans les urines chez l'Homme et le lapin, alors qu'il serait éliminé en partie *via* la bile chez le chien, le rat et le cobaye (11).

Les résultats de l'approche modélisatrice de l'étude comparative interspécifique pharmacocinétique (11) ont suggéré qu'il existait bien une autre voie d'élimination du BPA-G que la voie urinaire chez la souris, le rat, mais surtout chez le chien. Cette hypothèse a été confirmée par une étude complémentaire de la même équipe en utilisant une approche chirurgicale de dérivation totale de la bile, montrant qu'une grande partie (39,5%) de la dose de BPA administrée par voie i.v. (5mg/kg) était éliminée par voie biliaire sous forme de BPA-G. Cette étude a également suggéré l'existence d'une recirculation entérohépatique du BPA-G chez le chien (11).

L'existence d'un cycle entérohépatique a été fortement suggérée suite à l'observation dans différentes études d'un ou plusieurs rebonds des concentrations plasmatiques en BPA observées après une administration de BPA chez le rat (13). En effet, lorsque le BPA-G est excrété dans la bile, il est transporté via le canal cholédoque jusqu'au duodénum, où il peut subir une hydrolyse par les bactéries présentes au niveau de la flore intestinale (entérobactéries et bactéries du genre *Clostridium*). Ces bactéries possèdent une activité glucuronidase qui hydrolyse le BPA-G en BPA lui permettant ainsi de retrouver son caractère lipophile et d'être réabsorbé dans les parties distales du tube digestif (comme le caecum et le colon) non drainées par le système porte, court-circuitant ainsi le premier passage hépatique (Figure 2). Cette excrétion biliaire du BPA-G ne semble pas se produire chez l'Homme (11).

I.2.8 Biosurveillance et exposition humaine au BPA

Du fait des nombreuses polémiques soulevées par le BPA, de nombreuses études de biosurveillance ont été mises en place ces dernières années afin d'évaluer l'exposition de la population humaine à cette molécule. Ces études ont permis de décrire les concentrations plasmatiques et/ou urinaires en BPA dans des échantillons de la population humaine suite à une exposition environnementale et dans différentes situations physiologiques et/ou physiopathologiques.

L'exposition humaine au BPA est ubiquitaire comme en témoigne l'étude effectuée par Calafat et ses collègues, sur une cohorte américaine de 2 517 personnes âgées de 6 ans et plus, qui a mis en évidence la présence du BPA dans l'urine de 93% des individus (7) ou encore une étude réalisée sur 1870 coréens qui a mis en évidence du BPA dans l'urine de 99,8% des individus (29). Mais aussi, une étude Allemande a mis en évidence du BPA dans l'urine de 99 % d'individus d'une population de 599 enfants allemands âgés de 3 à 14 ans (2). Enfin, du BPA a effectivement été retrouvé dans différents liquides biologiques tel que le plasma, le sérum, l'urine, le lait maternel, le liquide amniotique et la salive mais aussi différents tissus : le placenta et le tissu adipeux et ceci dans la population située à différents endroits du globe (50).

- Données urinaires

Depuis une dizaine d'années, de nombreuses études de biosurveillance ont évalué l'exposition de la population humaine à travers la quantification du BPA urinaire. Dans la plupart des études, les concentrations de BPA total (BPA libre et BPA conjugué) ont été comprises entre 0.1 et 2 ng/mL (11). En regard des différentes études de biosurveillance qui ont été réalisées, les concentrations urinaires en BPA total sont relativement homogènes et semblent constituer un biomarqueur pertinent de l'exposition humaine environnementale au BPA quelles que soient les sources de contamination.

Certaines études de biosurveillance ont évalué l'exposition chez les enfants qui constituent la catégorie de la population la plus exposée via la nourriture (16). Ainsi, les études citées précédemment (7 et 2) ont respectivement mis en évidence du BPA dans l'urine de 93% d'une population d'individus âgés de 6 ans et plus, et dans l'urine de 99% d'une population de 599 individus âgés de 3 à 14 ans. Pour ces deux études, les concentrations

urinaires en BPA les plus élevées ont été observées chez les plus jeunes et diminuent progressivement avec l'âge.

En admettant que la quasi-totalité du BPA est éliminé dans les urines sous forme de BPA-G, ainsi que le suggèrent les données de la littérature, il est possible d'obtenir une estimation du taux d'entrée de BPA dans l'organisme à partir des données urinaires. Pour obtenir une telle estimation, il faut effectuer le produit de la concentration urinaire moyenne de BPA total par le volume d'urine produit sur 24 heures (estimé en fonction de l'âge) (18). Ainsi, Volkel *et al.* ont estimé que la quantité maximale de BPA entrant dans l'organisme serait de l'ordre de 3.7 µg/(kg.j), soit très inférieure à la DJA (52).

- Données plasmatiques

De nombreuses études de biosurveillance se sont attachées à détecter le BPA non conjugué dans le sang afin d'estimer l'exposition interne humaine à la forme active du BPA. Afin de déterminer les concentrations plasmatiques en BPA, plusieurs techniques de dosage ont été utilisées comme par exemple la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie, la chromatographie en phase liquide à haute performance ou encore le dosage immuno-enzymatique ELISA (4).

Le consensus général qui peut être dégagé des études de biosurveillance évaluant les concentrations plasmatiques ou sériques de BPA d'adultes sains, d'adultes malades, de femmes enceintes ou de fœtus est que l'exposition interne au BPA se situe dans une gamme allant de 0,5 à 10 ng/mL avec la plupart des études suggérant une exposition interne moyenne approximativement de 1 à 3 ng/mL (49).

I.3 Contexte de l'étude et stratégie expérimentale

Notre étude s'inscrit dans la continuité de la thèse réalisée par **S.H. Collet** au sein de l'équipe **PPE** de l'UMR 1331 à l'ENVT en 2011 (11), et notamment de l'étude « Evaluation des différences interspécifiques de pharmacocinétique du BPA et du BPA-G ». L'objectif des travaux menés était d'évaluer les paramètres pharmacocinétiques du BPA après une administration i.v. et orale de BPA chez cinq espèces de mammifères différentes (mouton, porc, chien, rat, souris) et de développer une approche allométrique pour estimer la clairance du BPA chez l'homme.

Cette étude met en évidence que chez toutes les espèces, la clairance plasmatique du BPA est élevée et de l'ordre du débit sanguin hépatique (car le BPA présente un fort coefficient d'extraction hépatique > 0.7).

Ainsi la clairance plasmatique du BPA serait équivalente au débit sanguin hépatique tel que défini par une équation allométrique (Equation 1) $Q_h = 0.0555 * P^{0.894}$ avec P le poids vif en kg et Q_h en L/min. Etant donné que la clairance du BPA est conditionné par un processus d'élimination, cette approche allométrique est très performante pour extrapoler ce paramètre à d'autres espèces à partir du poids corporel. Ainsi, la clairance plasmatique du BPA pour un homme de 70 kg a été estimée à 40 mL/(kg.min) par extrapolation de cette relation allométrique (Figure 3) (11).

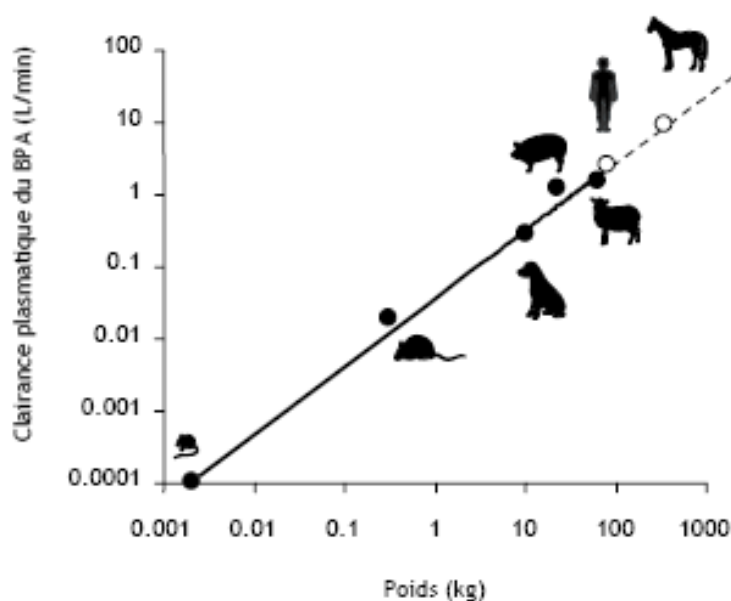


Figure 3 : Relation allométrique (log-log) entre le poids et la clairance plasmatique du BPA chez 5 espèces de mammifères (●, souris, rat, chien, porc et mouton) et extrapolation à l'Homme et au cheval (○). La régression linéaire a été réalisée uniquement avec les données obtenues chez le mouton, le porc, le chien, le rat et la souris. ($R^2 = 0.9924$) (11)

L'estimation de la clairance plasmatique du BPA chez l'homme grâce à l'approche allométrique donne des résultats comparables à ceux observés dans la littérature.

La clairance du BPA chez l'homme (40 mL/(kg.min) peut être utilisée pour prédire le niveau d'exposition interne au BPA de la population humaine à partir du niveau d'exposition externe au BPA (de l'ordre du $\mu\text{g}/\text{kg}$). Les valeurs ainsi prédites des concentrations plasmatiques en BPA chez l'homme, sont de l'ordre du pg/ml, soit 1000 fois inférieures à la valeur médiane de celles rapportées dans des études de biosurveillance (1 à 3 ng/mL). En raison de cette incohérence, une grande partie des études de biosurveillance ne sont pas prises en compte dans le cadre de l'évaluation du risque lié à l'exposition environnementale au BPA. Or, la connaissance du niveau réel de l'exposition interne humaine au BPA est essentielle pour pouvoir extrapoler à l'homme les données expérimentales obtenues chez l'animal et qui montrent des effets délétères du BPA pour des concentrations plasmatiques de l'ordre de 0,26-1,77ng/ml (38).

Différentes hypothèses pourraient expliquer les incohérences constatées entre les concentrations plasmatiques, le niveau d'exposition externe et la clairance du BPA chez l'homme :

Hypothèse 1 : Les concentrations plasmatiques en BPA rapportées chez l'homme sont surestimées du fait d'un biais pré-analytique ou analytique (hydrolyse des composés conjugués dans les échantillons biologiques, mauvaise spécificité de la méthode analytique ou encore contamination de l'échantillon). Cette hypothèse n'est pas totalement satisfaisante en raison des précautions prises par les expérimentateurs pour analyser les échantillons.

Hypothèse 2 : L'exposition externe humaine au BPA est supérieure aux valeurs prédites à partir des estimations des expositions essentiellement d'origine alimentaire, suggérant ainsi l'existence d'autres sources d'exposition, encore non identifiées.

Afin de vérifier cette hypothèse, une première étude a consisté à d'estimer le niveau d'exposition externe au BPA du chien en tant qu'animal sentinelle de l'exposition humaine d'origine environnementale.

Le concept d'utilisation de l'animal en tant que sentinelle de l'exposition humaine n'est pas nouveau. L'exemple le plus connu est sans nul doute le canari utilisé dans l'exploration minière pour détecter le monoxyde de carbone.

Considérer le chien comme animal sentinelle est une approche pertinente : en effet, l'homme et le chien sont soumis aux mêmes paramètres environnementaux :

- air ambiant
- eau
- habitat (construction, revêtements, matériaux)
- poussières
- alimentation le cas échéant

A titre d'exemple, l'exposition environnementale au plomb liée à l'habitat peut être déterminée à travers l'évaluation des concentrations sériques en plomb des chiens (1). Par ailleurs, en raison de sa petite taille, de sa proximité vis à vis du sol, et d'un comportement de léchage des objets et de jeu, le chien est plus particulièrement considéré comme une sentinelle de l'exposition des enfants (39).

Ainsi, le chien peut être amené à être exposé au Bisphénol A et son niveau d'exposition interne peut varier en fonction de son mode et son milieu de vie.

C'est pourquoi une enquête a été menée via un questionnaire permettant de récolter les données relatives au quotidien de chaque animal qui en parallèle, a fait l'objet d'un prélèvement sanguin. Cette étude a été réalisée sous la forme d'un essai pilote, sur une population d'animaux limitée (n=24).

L'objectif de cette étude est donc d'utiliser les données d'exposition interne spontanée au BPA et au BPA-G obtenues par les prélèvements ainsi que les données pharmacocinétiques moyennes du BPA précédemment obtenues chez le chien (11), afin de prédire le niveau d'exposition externe du chien au BPA. Cette estimation de l'exposition externe du chien pourrait être un indicateur du niveau d'exposition externe au BPA de l'homme dans son environnement domestique.

Hypothèse 3 : La clairance plasmatique du BPA chez l'homme peut être soumise à des variations physiologiques et sa diminution dans certaines conditions non identifiées pourrait expliquer des concentrations plasmatiques élevées en BPA. En effet, d'après la littérature certaines conditions physiologiques, pathologiques, ainsi que la prise d'un traitement ou encore les modalités de prise de nourriture semblent influencer la clairance de nombreuses molécules (55)(23).

Par ailleurs, une étude récente réalisée chez la souris a suggéré que les modalités de prise de nourriture pouvaient modifier les paramètres pharmacocinétiques du bisphénol A (42). Ainsi, les auteurs ont comparé deux modalités d'administration orale de BPA, une administration continue dans la nourriture distribuée *ad libitum*, correspondant à une exposition externe à 13 mg de BPA/kg et une administration unique par gavage de 20 mg/kg. Pour une relative même dose externe, la biodisponibilité du BPA était plus forte pour les souris exposées via l'alimentation que pour le groupe disposant d'une administration unique sous forme de bolus. Cette biodisponibilité accrue pourrait être expliquée par des phénomènes post-absorption appelés en pharmacocinétique « Effet Alimentation » et non pas par une modification de l'absorption du BPA.

Ce concept pharmacocinétique de « l'Effet Alimentation » ou « Food Effect » est fondé sur la réduction de l'effet de premier passage hépatique par la prise alimentaire. Notre hypothèse est que la prise alimentaire inhiberait transitoirement la capacité intrinsèque du foie à métaboliser des substances (45)(55), notamment pour les substances fortement métabolisées par le foie comme le BPA, ce qui pourrait expliquer des concentrations élevées en BPA.

En accord avec le caractère relativement lipophile du BPA (coefficient de partition octanol-eau, $\text{LogKow} = 3.4$), des données obtenues chez le rat suggèrent qu'il pourrait s'accumuler dans le tissu adipeux, et préférentiellement dans le tissu adipeux brun (37). Des concentrations moyennes de BPA de 5.8 ng/g de tissu adipeux ont également été décrites chez la femme (19). Par ailleurs, une étude réalisée sur le modèle de chiennes obèses au laboratoire du service de physiologie de l'ENVT avait montré que l'obésité entraînait une diminution de la clairance plasmatique de l'ivermectine, un composé lipophile ($\text{LogKow}=4.1$). Suite à ces observations, nous avons émis l'hypothèse selon laquelle l'obésité pourrait conduire à une exposition interne accrue au bisphénol A.

Ainsi, afin de tester l'hypothèse d'une diminution de l'effet de premier passage hépatique associée à la prise alimentaire, et de l'impact de l'obésité sur l'exposition interne au BPA, nous avons comparé les paramètres pharmacocinétiques du BPA administré par voie intraveineuse chez des animaux à jeun ou après une prise de nourriture, en choisissant comme modèle d'étude des chiens d'un poids normal (standard de race) et des chiens maintenus obèses.

Hypothèse 4 : Il pourrait exister des voies d'entrée systémique du BPA non identifiées associées à une forte absorption qui en évitant, comme la voie cutanée, l'effet de

premier passage hépatique ainsi que le métabolisme intestinal (Figure 2) peuvent être associées à des concentrations plasmatiques élevées en BPA comme celles retrouvées dans les études de biosurveillance humaines (de l'ordre du ng/mL).

Etant donné que l'alimentation est considérée comme la source majeure d'exposition au BPA et en raison de la perméabilité élevée de la muqueuse buccale (4000 fois supérieure à l'absorption cutanée) et de l'importance de son drainage sanguin et lymphatique, l'absorption du BPA dans la cavité buccale et en particulier dans la région sublinguale représente une voie potentielle d'entrée du BPA qui évite ainsi l'effet de premier passage hépatique. Ce mécanisme pourrait jouer un rôle important lorsque le BPA est présent dans des substrats alimentaires qui sont retenus pendant une période prolongée dans la cavité buccale (gomme, gels...).

A titre d'exemple, une étude réalisée chez le porc castré a montré qu'une application de testostérone à la dose de 1mg (14µg/kg) sur la muqueuse sublinguale, était suivie d'une élévation rapide et prononcée des concentrations plasmatiques de cette hormone (10) qui ont atteint 2.5ng/ml, 10 minutes après l'application du stéroïde, alors que la clairance de la testostérone chez le porc est élevée, de l'ordre de 34ml/kg.min (9). Ce résultat suggère que les stéroïdes sont fortement absorbés par voie sublinguale (Fraction absorbée estimée à 30%).

Nous avons donc émis l'hypothèse selon laquelle l'absorption sublinguale de BPA en permettant l'échappement du BPA à l'effet de premier passage hépatique pourrait expliquer des concentrations plasmatiques élevées chez l'homme.

Le chien représente un bon modèle pour tester notre hypothèse car sa muqueuse buccale comme celle du porc est non kératinisée contrairement à celle des rongeurs et présente des similitudes avec celle de l'homme (41).

Afin de vérifier notre hypothèse nous avons réalisé un essai pilote sur 2 chiens qui avait pour objectif d'évaluer le passage du BPA par voie sublinguale.

Le but de cette thèse est donc d'examiner les facteurs qui pourraient être associés à une augmentation de l'exposition interne au BPA et de contribuer à expliquer les incohérences constatées entre les données de biosurveillance disponibles dans la littérature et les résultats observés dans les études réalisées à l'ENVT, en utilisant le chien comme modèle expérimental.

Partie II - Matériels et Méthodes

L'ensemble des opérations de préparation de solution de BPA a été réalisée dans une pièce identifiée et seul du matériel en verre ou en polypropylène jetable a été utilisé que se soit pour la préparation des solutions, pour prélever, stocker et analyser les échantillons. L'absence de contamination des échantillons sanguins par le BPA avec le matériel et la méthode analytique utilisée a été vérifiée.

II.1 Matériels et Méthodes spécifiques

II.1.1 Etude 1 : Evaluation de l'exposition au Bisphénol A du chien en tant qu'animal sentinelle de l'exposition humaine d'origine environnementale (essai pilote)

II.1.1.1 Objectifs

- Evaluer le niveau d'exposition interne au Bisphénol A d'une population de chiens de propriétaires dans le but de prédire les niveaux d'exposition externe au BPA de l'homme dans son environnement domestique.
- Documenter les sources de variation de cette exposition en fonction du mode de vie de l'animal (enquête questionnaire).

II.1.1.2 Animaux

Cette étude a été réalisée sur des chiens (n=24) de race, âge, poids et statut physiologique différents provenant de propriétaires dont la participation était totalement volontaire.

Les propriétaires étaient tous étudiants vétérinaires, mais ne vivaient pas forcément dans la même communauté (comme par exemple une cité étudiante). Aucune recommandation particulière n'a été imposée aux propriétaires avant de présenter leur animal.

II.1.1.3 Méthodologie expérimentale

II.1.1.3.1 Modalités de collecte d'informations sur le mode de vie de l'animal

Pour chaque chien, le propriétaire a dû répondre à un questionnaire à choix multiple (Annexe 1) visant à documenter les sources d'exposition au BPA.

Dans ce questionnaire, l'ensemble des paramètres susceptibles d'influencer l'exposition au BPA ont été documentés.

1) L'alimentation : Le type (pâtée en sachet ou conserve, croquettes, ration ménagère), la provenance des ingrédients des rations ménagères ainsi que leur condition de stockage et d'utilisation (réchauffement avant distribution ou non) ont été précisés. La possible distribution « d'à cotés » *i.e* de friandises, ou de restes de tables, a également été demandée aux propriétaires, car ces derniers peuvent représenter une source d'exposition au BPA. Dans le cas de rations ménagères, les chiens peuvent être soumis à un régime alimentaire proche de l'homme. Plus fréquemment, ils peuvent être exposés au BPA via la contamination des aliments pour chien en raison de leur conditionnement dans des boîtes de conserve, des contenants en plastique, ou de leur contamination au cours du processus de fabrication.

2) Les objets usuels : (jouets en plastiques, gamelles et lieu de couchage en plastique...) ont également été pris en compte.

3) Le type d'habitat et milieu de vie : ville ou campagne, appartement ou maison. En effet, un animal vivant dans un milieu clos et restreint est plus à même d'être exposé à des polluants liés à l'habitat.

4) Le comportement de l'animal : la tendance à mâchonner ou le léchage d'objets en plastique est susceptible d'avoir un impact sur l'exposition au BPA.

5) Le statut physiologique de l'animal : il a été demandé aux propriétaires le statut physiologique de l'animal (Entier, stérilisé, gravide), la présence d'un éventuel statut pathologique (insuffisant rénal, ...) et si l'animal était sous traitement au moment du prélèvement, car ces différents paramètres pourraient influencer l'exposition interne au BPA. En effet, une étude *in vitro* a montré que certains médicaments (naproxène, carbamazépine, acide méfénamique...) pouvaient diminuer de 50 % la glucuronidation du BPA (51).

Les propriétaires fumeurs ont été priés de le signaler car d'après une étude de 2009 les concentrations sériques en BPA sont significativement plus grandes chez les fumeurs par rapport aux non fumeurs (24). Nous avons ainsi voulu considérer cette corrélation chez les animaux dont les propriétaires sont fumeurs.

II.1.1.3.2 Modalités de collecte des échantillons

Des prélèvements sanguins de 5 ml ont été réalisés par ponction directe de la veine jugulaire droite avec une aiguille bleue 23G (0,6x25mm) montée sur une seringue de 5 ml.

Après le prélèvement, le sang a été collecté dans un tube hépariné de 5 ml (héparinate de lithium), mélangé par retournement et immédiatement placé dans la glace.

II.1.2 Etude 2 : Evaluation de la disposition du BPA chez le chien : effet de la prise alimentaire et de l'obésité sur les paramètres pharmacocinétiques du BPA

II.1.2.1 Objectifs

- Evaluer « l'effet alimentation » sur les paramètres pharmacocinétiques du BPA chez le chien.
- Evaluer l'effet de l'obésité sur les paramètres pharmacocinétiques du BPA chez le chien.

II.1.2.2 Animaux

Cette étude a été réalisée avec des chiennes Beagle adultes dont 6 présentant un statut pondéral normal avec un poids moyen de 10,751 kg \pm 0,985 kg et 6 chiennes obèses d'un poids moyen de 19,562 kg \pm 2,080 kg. Les chiennes ont été hébergées dans des cages à métabolisme en inox le jour de l'administration et ont été abreuvées *ad libitum*. Le reste du temps, les chiennes ont été hébergées par 2 en box sur une litière en copeaux de bois.

Les chiennes ont été nourries une fois par jour, le matin (excepté le jour de l'administration pour les chiennes devant rester à jeun), avec un aliment commercial pour chien (Entre 100 et 200g de Medium Adult Royal Canin®, aliment complet pour chien adulte de taille moyenne). Les chiennes obèses recevaient une ration supplémentaire composée de 50g de graisse de bœuf. Le jour de l'administration, le repas des chiennes d'un poids moyen normal a été complété avec de la pâtée Pedigree® (500g) afin d'enrichir la ration. Les chiennes maintenues à jeun le jour de l'étude ont été nourries le soir suivant l'administration.

La veille de l'administration, la peau au niveau des jugulaires et de la veine céphalique droite a été tondu. Les chiennes ont été pesées dans les deux jours précédant l'administration.

II.1.2.3 Produits chimiques et préparation des solutions

Le Bisphénol A a été obtenu sous la forme de poudre (PM: 228.29 g/mol, pureté >99%) chez Sigma Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France).

La solution de BPA a été préparée le jour même des administrations.

Pour la solution de BPA à administrer par voie i.v., la poudre a été diluée dans du solvant Ethanol/Propylenglycol (vol:vol, 1:49) à la concentration de 50 mg/ml. La solution de BPA a été préparée dans des flacons ambrés à sertir. Un aliquot de 500 µl de solution a été conservé à -20°C afin d'évaluer la concentration de la solution administrée.

II.1.2.4 Méthodologie expérimentale

II.1.2.4.1 Plan expérimental

L'étude s'est déroulée sur deux périodes séparées d'une semaine (le temps de demi-vie plasmatique du BPA-Glucuronide (BPA-G) étant de 9.6 h). Les chiennes ont été réparties de façon aléatoire et en nombre égal, soit n=6 (3 chiennes obèses et 3 chiennes d'un poids normales) entre les 2 séquences (A et B) du plan d'expérience en cross-over présenté ci-dessous.

	Séquence A	Séquence B
	(3 chiennes normales + 3 chiennes obèses)	(3 chiennes normales + 3 chiennes obèses)
Période 1	à jeun	après prise alimentaire
Période 2	après prise alimentaire	à jeun

Trois prélèvements sanguins de contrôle de 2 ml ont été réalisés dans la veine jugulaire droite la veille des administrations.

II.1.2.4.2 Modalités d'administration

L'administration intraveineuse a été réalisée via un cathéter (22G Terumo ®) mis en place au niveau de la veine céphalique droite juste avant l'administration. Le BPA a été administré à la dose de 10 mg/kg. Le volume administré a été ajusté au poids corporel de l'animal, déterminé au cours des 48h précédant l'administration. Le cathéter a ensuite été rincé avec du sérum physiologique (2ml) et retiré juste après l'injection.

II.1.2.4.3 Modalités de collecte des échantillons

Suite à l'administration intraveineuse de BPA, des prélèvements sanguins ont été réalisés dans la veine jugulaire droite aux temps 2, 4, 8, 15, 30, 60, 90 min, puis 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 34 et 48h après l'administration par voie iv, soit 20 prélèvements sanguins au total (avec les contrôles).

Les prélèvements sanguins de 2 ml ont été réalisés avec une aiguille bleue 23G (0,6x25mm) montée sur une seringue de 2 ml. Le sang a été recueilli dans un tube hépariné de 5 ml (héparinate de lithium), puis le sang a été mélangé par retournement et immédiatement placé dans la glace.

II.1.3 Etude 3 : Evaluation du passage du BPA suite à une administration de BPA par voie sublinguale chez le chien (essai pilote)

II.1.3.1 Objectifs

➤ Evaluer le passage du BPA suite à une administration de BPA par voie sublinguale chez le chien.

II.1.3.2 Animaux

L'étude a été réalisée avec 2 chiens Beagle mâle (désignés BM et BS) d'un poids d'environ 15 kg (15,1 kg et 15,7 kg). Les conditions d'hébergement et d'entretien des chiens ont été les mêmes que celles précédemment décrites.

Cette étude impliquant une anesthésie générale, les chiens ont été mis à jeun la veille au soir de l'administration. Le repas de la veille ayant eu lieu au maximum 12h avant l'administration et l'eau retirée 6 à 8 heures avant.

Tout comme pour l'étude précédente des zones de peau au niveau des jugulaires et de la veine céphalique droite ont été tondues la veille de l'administration. Les chiens ont été pesés au cours des deux jours précédant l'administration.

II.1.3.3 Matériel, produits chimiques et préparation des solutions

Afin de pouvoir administrer le BPA par voie sublinguale, celui-ci a été dilué dans un mélange éthanol/huile de maïs (vol:vol, 2,5:7,5) à la concentration de 250 mg/ml. La solution de BPA a été préparée dans des flacons ambrés à sertir.

II.1.3.4 Méthodologie expérimentale

II.1.3.4.1 Plan expérimental

L'étude s'est déroulée en une seule phase au cours de laquelle les deux chiens ont reçu une administration de BPA par voie sublinguale.

II.1.3.4.2 Protocole anesthésique

Les chiens ont été anesthésiés juste avant l'administration selon le protocole suivant :

Une prémédication a été réalisée à l'aide d'acépromazine (Calmivet ND VETOQUINOL) à la dose de 0.1mg/kg IV, puis l'anesthésie a été ensuite induite avec du thiopental sodique (Nesdonal ND MERIAL SAS) à 15mg/kg IV (10 minutes après la prémédication). Enfin, l'anesthésie a été maintenue avec de l'isoflurane (Vetflurane ND VIRBAC) à 2%. Les injections ont été faites par voie intraveineuse via un cathéter (22G Terumo ®) mis en place au niveau de la veine céphalique droite avant l'anesthésie.

L'anesthésie a été maintenue pendant l'heure suivant l'administration de BPA.

II.1.3.4.3 Modalités d'administration

Le BPA a été administré sous la forme d'un bolus à la dose de 20 mg/kg déposée directement sur la muqueuse sublinguale. Le volume déposé a été ajusté au poids corporel de l'animal déterminé au cours des 24h précédant l'administration (soit environ 1,2 – 1,3 mL)

L'administration par voie sublinguale a été réalisée via une seringue de 2 mL en appliquant la quantité de liquide directement sur la muqueuse sublinguale sur une surface approximative de 5cm². La langue a été maintenue à l'extérieur de la cavité buccale pendant l'heure de l'anesthésie.

II.1.3.4.4 Modalités de collecte des échantillons

Les prélèvements sanguins de 2 mL ont été réalisés par ponction directe de la veine jugulaire droite avec une aiguille bleue 23G (0,6x25mm) montée sur une seringue de 2mL.

Trois prélèvements sanguins contrôles ont été réalisés dans l'heure précédant l'administration. Les prélèvements sanguins ont été réalisés aux temps 2, 4, 8, 15, 30, 60, 90 min, puis 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h post-administration, soit 18 prélèvements sanguins au total.

Après le prélèvement, le sang a été placé dans un tube hépariné de 4mL, mélangé par retournement et immédiatement placé dans la glace.

II.2 Matériels et Méthodes communs aux trois études

II.2.1 Modalités de traitement des échantillons

Les échantillons sanguins ont été centrifugés à 4000 x g pendant 10 minutes à +4°C dans un délai n'excédant pas une heure après leur obtention.

Pour l'étude 1, le plasma a été aliquoté en 3 fractions : 1 aliquot de 100 µl et deux aliquots de 1 ml dans des tubes Eppendorff® de 1.5 ml. Pour les études 2 et 3 le plasma a été aliquoté en 2 fractions : 1 aliquot de 100 µl et un 2^{ème} aliquot avec le reste de plasma dans des tubes Eppendorff® de 1.5 ml

Les plasmas ont été immédiatement congelés et conservés à -20°C jusqu'au moment du dosage du BPA et de son métabolite conjugué le BPA-G.

II.2.2 Dosage du BPA et du BPA-G

Les concentrations plasmatiques de BPA et BPA-G ont été déterminées par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS/MS) après extraction à l'acétonitrile, sur une gamme de concentrations de BPA allant de 1 à 100 ng/ml et de BPA-G allant de 10 à 1000 ng/ml, pour le plasma des échantillons de la première étude. (Selon la méthode décrite précédemment par **Lacroix et al.** (31))

Pour les études suivantes, la gamme de concentrations de BPA s'étendait de 1 à 1000 ng/ml (pour l'étude 2) et de 1 à 500 ng/ml (pour l'étude 3). La gamme de concentrations de BPA-G, quant à elle, allait de 20 à 10000 ng/ml dans le plasma pour les 2 études.

Les limites de quantification (LOQs) de la méthode LC-MS/MS pour le plasma pour l'évaluation des concentrations en BPA et BPA-G ont été respectivement de 1 ng/ml et 5 ng/ml pour la première étude, et 1 ng/ml et 20 ng/ml pour les 2 études suivantes.

II.2.3 Analyse pharmacocinétique

Les analyses pharmacocinétiques ont été réalisées à l'aide du logiciel de régression non linéaire WinNonlin (WinNonlin Professional version 5.3 ; Pharsight Corporation, Cary, NC, USA).

II.2.3.1 Analyse du BPA

- Les données des **concentrations plasmatiques en BPA (µg/ml)** ont été ajustées par la méthode des moindres carrés à l'équation polyexponentielle 2 suivante :

$$C(t) = \sum_{i=1}^n Y_i \exp(-\lambda_i t) \quad \text{Equation 2}$$

Où C(t) représente la concentration plasmatique en BPA au temps t (µg/ml), Y_i est le ième coefficient pré-exponentiel et λ_i la ième constante de temps de premier ordre (avec i représentant le ième compartiment). Les estimations initiales ont été obtenues en utilisant la méthode des résiduelles. Les paramètres pharmacocinétiques obtenus ont été ajustés par une régression non linéaire utilisant la méthode des moindres carrés pondérés.

Pour la deuxième étude le modèle choisi est bicompartimental et les concentrations ont été ajustées suivant un modèle biexponentiel :

$$C(t) = A \exp(-\alpha t) + B \exp(-\beta t) \quad \text{Equation 3}$$

Où α et β sont les constantes de temps de premier ordre de la phase initiale et terminale.

- **Le temps de demi-vie (t_{1/2} en min)** a été calculé selon l'équation 4 :

$$t_{1/2} = \ln(2) / \beta \quad \text{Equation 4}$$

- **La clairance plasmatique (Cl, en ml/kg/min)** a été calculée selon l'équation 5 :

$$Cl = \text{Dose} / \text{AUC} \quad \text{Equation 5}$$

Où AUC (µg.min/mL) est l'aire sous la courbe des concentrations plasmatiques en BPA en fonction du temps, calculée avec la méthode des trapèzes arithmétiques. Ainsi, la

clairance permet de mesurer la capacité d'élimination de l'organisme et représente le volume de sang totalement épuré de la molécule par l'organisme par unité de temps.

- Le **volume de distribution du compartiment central (Vc ou V2, en ml/kg)** a été calculé à l'aide de l'équation 6 :

$$V_c = \text{dose} / \sum_{i=1}^n Y_i \quad \text{Equation 6}$$

Il représente le volume initial de distribution au temps 0.

- Le **volume de distribution à l'équilibre (VSS, en ml/kg)** a été calculé à l'aide de l'équation 7 :

$$V_{ss} = V_c \left(1 + \sum_{i=1}^n K_{1n}/K_{n1} \right) \quad \text{Equation 7}$$

Où K_{1n} et K_{n1} sont les constantes de premier ordre traduisant les échanges entre les compartiments du modèle. V_{ss} permet de calculer la quantité de métabolite dans l'organisme à un temps donné à partir des concentrations plasmatiques.

- Le **temps moyen de résidence (MRT, en min)** a été calculé à l'aide de l'équation 8 :

$$\text{MRT} = \sum_{i=1}^n Y_i / \lambda_i^2 \Big/ \sum_{i=1}^n Y_i / \lambda_i \quad \text{Equation 8}$$

Il s'agit du temps moyen passé dans l'organisme par la molécule administrée.

II.2.3.2 Analyse du BPA-G

Les concentrations plasmatiques de BPA et de BPA-G ont été analysées à l'aide d'une approche non-compartimentale. Pour l'analyse des concentrations plasmatiques de BPA-G, la quantité de BPA-G qui entre dans l'organisme a été calculée en équivalent BPA, en faisant l'hypothèse que tout le BPA administré est transformé en BPA-G.

La clairance apparente du BPA-G (Cl_{F_obs} BPA-G en ml/kg/min) a été obtenue en divisant la dose de BPA-G qui entre dans l'organisme par l'AUClast ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{ml}$) du BPA-G

qui correspond à la quantité de BPA-G plasmatique disponible en fonction du temps (Equation 9).

$$Cl_{F_obs} = \text{Dose BPA-G} / \text{AUC}_{last} \quad \text{Equation 9}$$

Les autres paramètres qui ont été évalués sont C_{max} ($\mu\text{g/ml}$) (La valeur maximale de concentration observée), T_{max} (min) (Temps nécessaire pour atteindre C_{max}) et AUC_{inf} ($\mu\text{g}\cdot\text{min/ml}$) qui correspond à l'aire sous la courbe dont les dernières valeurs de concentration ont été extrapolées à partir de la constante d'élimination.

II.2.4 Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous la forme de moyenne \pm écart-type. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel Systat (version 12.0 ; Chicago, IL, USA) selon une analyse de variance à 2 facteurs (état d'engraissement et prise alimentaire) en tenant compte de l'interaction entre ces facteurs. Les valeurs de P inférieures à 0.05 ont été considérées statistiquement significatives.

Partie III - Résultats et discussions

III.1 Etude 1 : Evaluation de l'exposition au Bisphénol A du chien en tant qu'animal sentinelle de l'exposition humaine d'origine environnementale (essai pilote)

III.1.1 Enquête questionnaire préliminaire aux prélèvements

Les résultats de l'enquête sur les conditions de vie des chiens sont présentés dans le tableau 3 suivant :

	Nombre / 24	%
Poids moyen des chiens prélevés (kg)	20	/
Mâles	10	41.7
Femelles	14	58.3
Animaux stérilisés	13	54.2
Animaux présentant une pathologie	3	12.5
Animaux ayant eu un repas il y a moins d'une heure	2	8.3
Animaux avec 1h < repas < 3h	2	8.3
Animaux avec 3h < repas < 12h	15	62.5
Animaux avec repas > 12h	5	20.8
Alimentation à base de croquettes	24	100.0
Alimentation avec une ration ménagère	1	4.2
Distribution de "à côtés"	12	50.0
Animaux dont les "à côtés" proviennent d'emballages plastiques	11	45.8
Animaux ayant une gamelle en plastique	12	50.0
Animaux ayant des jouets en plastique	15	62.5
Animaux jouant longtemps avec leur jouet plastique	8	33.3
Animaux ayant tendance à lécher des objets en plastique	0	0.0
Animaux ayant un lieu de couchage en plastique	5	20.8
Animaux vivant en ville	20	83.3
Animaux vivant en appartement	17	70.8
Animaux vivant la plupart du temps à l'intérieur	20	83.3
Animaux sous traitement	3	12.5
Animaux ayant un propriétaire fumeur	2	8.3

Tableau 3 : Résultats de l'enquête questionnaire sur le mode et les habitudes de vie des animaux prélevés.

L'observation de ce tableau montre que la totalité des animaux testés sont nourris avec des croquettes. Par ailleurs, un seul des animaux testés reçoit, en plus des croquettes, une alimentation de type ration ménagère dont les composants proviennent de contenants plastiques et conserves. En outre, les informations données par le propriétaire révèlent que

cette ration ménagère est servie cuite, non réchauffée et stockée dans des contenants non plastiques.

Ce tableau permet aussi de montrer que pour moitié (12/24), les propriétaires ayant participé à l'étude distribuent régulièrement des « à cotés » à leur animal, dont la quasi totalité (11/12) proviennent de contenants comportant du plastique. On peut également constater que la moitié (12/24) des animaux présentés possède au moins une gamelle en plastique.

Par ailleurs, 62.5% (15/24) des animaux présentés possèdent des jouets en plastiques mais seulement 8 d'entre eux ont tendance à les mâchonner longtemps lorsqu'ils s'amuse avec. Par contre, aucun animal présenté n'a tendance à lécher des objets en plastique autre que leurs jouets. Enfin, 20.8% (5/24) des animaux présentés possèdent un lieu de couchage en plastique.

Pour finir, en ce qui concerne le mode de vie des animaux présentés, on constate que 83.3% (20/24) vivent en ville (le reste vivant en « campagne »), que 70.8% (17/24) vivent en appartement (les autres vivant dans des maisons avec ou sans jardin), et que 83.3% (20/24) vivent la majorité du temps en intérieur (tout milieu de vie confondus). Enfin, 3 animaux étaient sous traitement et seulement 2 avaient un propriétaire fumeur, ne fumant pas en présence de l'animal.

III.1.2 Dosage du BPA et du BPA-G dans les échantillons sanguins

Le tableau 4 suivant montre la concentration de BPA et de BPA-G retrouvée dans les plasmas provenant des chiens de propriétaires.

Chien	C. BPA (ng/mL)	C. BPA-G (ng/mL)	Chien	C. BPA (ng/mL)	C. BPA-G (ng/mL)
A	infloq	infloq	M	infloq	infloq
B	1.499	infloq	N	infloq	infloq
C	infloq	infloq	O	infloq	infloq
D	infloq	infloq	P	infloq	infloq
E	infloq	infloq	Q	infloq	infloq
F	infloq	infloq	R	infloq	infloq
G	infloq	infloq	S	infloq	infloq
H	infloq	infloq	T	infloq	infloq
I	infloq	infloq	U	infloq	infloq
J	infloq	infloq	V	infloq	infloq
K	infloq	infloq	W	infloq	infloq
L	infloq	infloq	X	infloq	infloq

Tableau 4 : Dosage du BPA et du BPA-G dans les échantillons sanguins des chiens de propriétaire.
(infloq = inférieur à la limite de quantification)

III.1.3 Discussion

Dans cette étude, nous avons évalué l'exposition externe au BPA du chien en tant qu'animal sentinelle de l'exposition humaine d'origine environnementale.

Sur la totalité des échantillons testés (n=24), un seul (Chien B) a présenté une concentration en BPA de 1,5 ng/mL, supérieure à la LOQ (1 ng/mL). D'après l'enquête questionnaire ce chien est nourri avec des croquettes de grande marque, ne reçoit aucun « à côtés » et ne possède aucun accessoire en plastique (jouets, gamelle, couchage...). Il s'agit par ailleurs d'un animal qui vit la plupart du temps à l'intérieur d'un appartement, qui n'était pas sous traitement au moment du prélèvement et dont les propriétaires ne sont pas fumeurs. Ainsi cet animal ne dispose à priori que de très peu de facteurs favorisant une exposition externe ou interne importante au BPA. Suite à ce constat, nous avons émis l'hypothèse d'une contamination de l'échantillon sanguin de cet animal que ce soit au cours du prélèvement, ou par la suite lors de l'analyse. Cette hypothèse est confortée par le fait que pour ce même chien, la concentration plasmatique de BPA-G s'est révélée inférieure à la LOQ (5 ng/mL).

Cette étude a été réalisée sur un petit effectif d'animaux dont les propriétaires sont tous étudiants vétérinaires, ce qui correspond à une population particulière en termes d'exposition. En effet, même si tous ces élèves ne vivent pas dans la même communauté, l'enseignement qui leur est dispensé, et les avantages dont ils disposent vis-à-vis des fabricants de croquettes pour animaux de compagnie influencent largement le mode d'alimentation de leur animal qui comme on a pu le constater sont tous nourris avec des croquettes (dont les emballages ont pour la plupart des marques un revêtement intérieur en composé perfluoré).

Nous avons également pu constater que la moitié des animaux présentés recevaient des « à côtés » qui proviennent pour la plupart d'emballages contenant du plastique, mais il semble que ce fait à lui seul ne soit pas suffisant pour augmenter significativement la concentration plasmatique en BPA. Cependant il nous est difficile de juger de la pertinence de ce résultat, car dans l'enquête questionnaire (Annexe 1) seul le type d'emballage (plastique ou autre) des friandises distribuées aux animaux a été renseigné. Or il existe 7 catégories différentes de plastiques alimentaires spécifiquement codifiées pour le recyclage, mais d'une part ce code n'est pas nécessairement connu du grand public, et d'autre part certains emballages ne sont pas destinés au recyclage et ne présentent donc pas de signal. Il est donc

difficile de savoir avec exactitude si les emballages des friandises (tranche de jambon, fin de pots de yaourts, etc...) sont à base de polycarbonate ou non.

Grâce à l'enquête questionnaire nous avons observé que près de 70% des animaux prélevés vivent en appartement et qu'un peu plus de 80% vivent la plupart du temps à l'intérieur. Nous nous sommes intéressés à cet aspect du mode de vie de l'animal car nous sommes partis du principe qu'un animal vivant dans un milieu clos et restreint est plus à même d'être en contact avec un contaminant. Or aucun animal n'a présenté une concentration plasmatique en BPA supérieure à la limite de quantification de 1 ng/mL.

De plus 50% des chiens prélevés possèdent au moins une gamelle en plastique, ce qui représente pour ceux vivant majoritairement à l'intérieur le seul point d'abreuvement ou de prise de nourriture. Près de 63% des chiens ont également au moins un jouet en plastique. Malgré cela, les concentrations plasmatiques en BPA restent indétectables. Pour les mêmes raisons que précédemment, il est difficile d'affirmer des conclusions sur les relations entre le milieu, le mode de vie et l'exposition externe au BPA car la nature du plastique qui compose les gamelles ou les jouets reste inconnue, d'autant plus que le BPA semble être peu utilisé dans ce type d'objets.

Trois des chiens étaient sous traitement au moment du prélèvement, mais tout comme les autres animaux, ces chiens ne présentaient pas de niveaux détectables de BPA. Ce constat ne peut pas nous permettre d'affirmer l'absence d'interaction médicamenteuse avec le métabolisme du BPA, car il est impossible de le différencier d'un défaut d'exposition externe au BPA.

Enfin, on peut constater que presque la totalité des animaux présentés avaient pris leur repas plus de 3 heures avant le prélèvement sanguin. Or le BPA, du fait de sa clairance élevée, a une demi-vie relativement courte (1 à 2h) (11), ce qui implique que pour des doses d'exposition peu élevées de BPA, les concentrations plasmatiques peuvent rapidement passer au dessous du seuil de détection.

Ces résultats ne sont donc pas en faveur de notre hypothèse de départ qui suggérait que l'exposition humaine est en réalité bien plus importante que les estimations réalisées dans les études de biosurveillance.

III.2 Etude 2 : Evaluation de la disposition du BPA chez le chien : effet de la prise alimentaire et de l'obésité sur les paramètres pharmacocinétiques du BPA

III.2.1 Evolution temporelle des concentrations plasmatiques en BPA et BPA-G

Les figures 4 et 5 présentent l'évolution des concentrations moyennes en BPA et en BPA-G au cours du temps dans le plasma des chiennes selon leur état d'engraissement (poids normal ou obèse) et selon leur statut (à jeun ou non) après une administration intraveineuse de BPA.

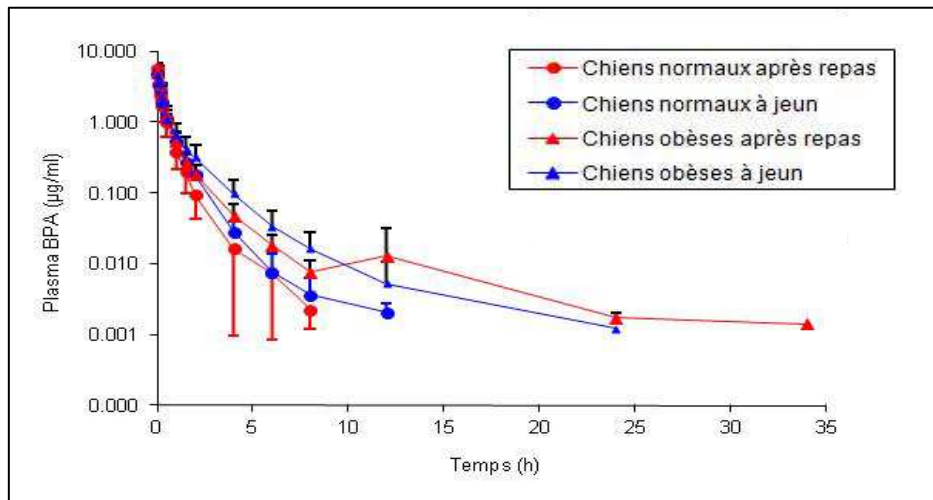


Figure 4 : Evolution des concentrations moyennes (\pm SD) en BPA au cours du temps dans le plasma de chiennes selon leur état d'engraissement (normal ou obèse) et leur statut prandial (à jeun ou non) après une administration i.v. de BPA à la dose de 10 mg/kg.

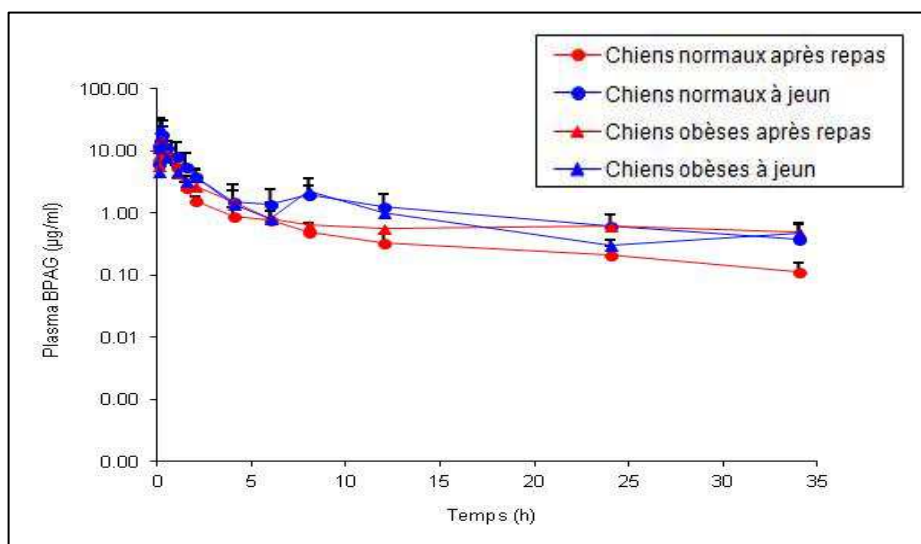


Figure 5 : Evolution des concentrations moyennes (\pm SD) en BPA-G au cours du temps dans le plasma de chiennes selon leur état d'engraissement (normal ou obèse) et leur statut prandial (à jeun ou non) après une administration i.v. de BPA à la dose de 10 mg/kg.

L'observation visuelle de la figure 4 suggère que le BPA plasmatique est éliminé plus lentement chez les chiennes obèses, que ces dernières soient à jeun ou non, car on retrouve encore des concentrations au dessus de la LOQ jusqu'à 12h après que celles des chiennes d'un poids normal soient devenues inférieures à la LOQ.

L'observation de la figure 5 quand à elle ne permet pas de dégager de différences particulières dans l'évolution temporelle des concentrations plasmatiques en BPA-G entre les différents groupes.

III.2.2 Paramètres pharmacocinétiques (PK) du BPA et du BPA-G en fonction de l'état d'engraissement et du statut prandial

Les tableaux 5 et 6 présentent respectivement les moyennes (\pm écart-type) des paramètres pharmacocinétiques du BPA et du BPA-G obtenus suite à l'administration i.v. de BPA à la dose de 10 mg/kg à des chiennes de poids normal ou obèses en distinguant le statut à jeun ou non.

Les paramètres pharmacocinétiques du BPA et du BPA-G pour chaque animal sont présentés en Annexe 2.

	Chiennes de poids normal		Chiennes obèses	
	A jeun	Repas	A jeun	Repas
t_(1/2) (min)	39.8 ± 10.7 ^a	31.4 ± 19.9 ^a	71 ± 16.1 ^b	65.5 ± 25.7 ^b
Cl (mL/kg/min)	84.8 ± 15.1	104.9 ± 38.3	71.1 ± 23.9	80.9 ± 27.2
MRT (min)	42.2 ± 9.8 ^{c, e}	28.9 ± 6.8 ^{c, f}	71.4 ± 16.6 ^{d, e}	49.8 ± 10.8 ^{d, f}
VSS (mL/kg)	3531.4 ± 836.3 ^g	2983.6 ± 1148.8 ^g	4975 ± 1902.8 ^h	3864.6 ± 991.4 ^h
Vc (mL/kg)	1612.5 ± 666	1813.8 ± 674.6	2826.2 ± 1049.9	1814.3 ± 482.9

Tableau 5 : Paramètres pharmacocinétiques moyens (\pm SD) du BPA, obtenus suite à une administration intraveineuse à la dose de 10 mg/kg de BPA. (^{a,b} / ^{c,d} / ^{e,f} / ^{g,h} P<0,05 : les valeurs indiquées par ces couples de lettres sont significativement différentes)

Ces résultats montrent que le temps de demi-vie ($t_{1/2}$) du BPA est significativement supérieur chez les chiennes obèses comparativement au chiennes de poids normal (valeur moyenne 68,3 ± 20min *versus* 35,6 ± 15,8min *P<0,05) quel que soit le statut prandial (Tableau 5). Le temps de résidence moyen (MRT) du BPA est également significativement supérieur chez les chiennes obèses (valeur moyenne 60,6 ± 17,7min *versus* 35,5 ± 10,6min *P<0,05). Les valeurs du MRT obtenues chez les chiennes à jeun sont également supérieures aux valeurs obtenues après une prise alimentaire quel que soit le statut pondéral (valeur moyenne 56,8 ± 20,1min *versus* 39,3 ± 13,7min *P<0,05). Enfin le volume de distribution à l'équilibre (Vss) des chiennes obèses est significativement supérieur à celui des chiennes de poids normal (valeur moyenne 4419,8 ± 1593,6mL/kg *versus* 3257,5 ± 999,8mL/kg *P<0,05).

Aucune autre différence significative n'a été observée pour les autres paramètres pharmacocinétiques selon l'état d'engraissement ou le statut prandial.

	Chiennes de poids normal		Chiennes obèses	
	A jeun	Repas	A jeun	Repas
Tmax (min)	16.33 ± 7.3	12.2 ± 9.4	8.5 ± 3.6	13.8 ± 9.5
Cmax (µg/mL)	21.3 ± 10.5 ^a	13.4 ± 3 ^b	27.7 ± 9.2 ^a	16 ± 5.6 ^b
AUClast (µg*min/mL)	3162.5 ± 894.5 ^c	1415.2 ± 161.6 ^d	2537.2 ± 572 ^c	2110 ± 749.6 ^d
AUCinfobs (µg*min/mL)	3532.5 ± 830 ^e	1665.4 ± 477.3 ^f	2899.6 ± 583.3 ^e	2620.4 ± 1055 ^f
Cl _{f_obs} (mL/kg/min)	5.2 ± 1.2 ^g	11.2 ± 2.4 ^h	6.3 ± 1 ^g	8 ± 4 ^h

Tableau 6: Paramètres pharmacocinétiques moyens (±SD) du BPA-G, obtenus suite à une administration intraveineuse à la dose de 10 mg/kg de BPA. (^{a,b/c,d / e,f / g,h} P<0,05 : les valeurs indiquées par ces couples de lettres sont significativement différentes)

Le tableau 6 montre que la concentration maximale en BPA-G observée chez les chiennes à jeun est significativement supérieure à celle observée chez les chiennes après une prise alimentaire (valeur moyenne 24,5 ± 10µg/mL *versus* 14,7 ± 4,3µg/mL *P<0,05). Les aires sous la courbe des concentrations en BPA-G sont également significativement plus importantes chez les chiennes à jeun que suite à un repas (valeur moyenne 2849,9 ± 786,8µg*min/mL *versus* 1762,6 ± 607,8µg*min/mL *P<0,05 pour AUClast) et (3216 ± 759,6 µg*min/mL *versus* 2142,9 ± 898,8µg*min/mL *P<0,05 pour AUCinfobs). Enfin, la clairance apparente du BPA-G des chiennes ayant eu un repas est significativement plus élevée que celle des chiennes à jeun (9,6 ± 3,5mL/kg/min *versus* 5,8 ± 1,2mL/kg/min *P<0,05)

III.2.3 Discussion

Dans cette étude, nous avons caractérisé l'effet de l'obésité et de la prise alimentaire sur les paramètres pharmacocinétiques du BPA et du BPA-G.

Nous avons ainsi observé que chez les chiennes obèses, le BPA plasmatique est éliminé plus lentement que chez les chiennes de poids normal, quel que soit le statut prandial. En effet, les concentrations plasmatiques en BPA sont encore quantifiables jusqu'à 12 heures après l'administration alors que celles des chiennes d'un poids normal sont inférieures au seuil de détection après ce délai.

Nous avons montré que le temps de demi-vie ($t_{1/2}$) du BPA, et son temps de résidence moyen (MRT) chez les chiennes obèses étaient environ deux fois supérieurs à ceux

des chiennes de poids normal. De plus, le volume de distribution à l'équilibre (V_{ss}) des chiennes obèses est environ 1,5 fois supérieur à celui des chiennes de poids normal.

Ceci implique que le BPA est plus largement distribué dans les tissus chez les chiennes obèses en comparaison avec les chiennes d'un poids normal. Ce constat est compatible avec les observations faites par **Doerge et al.** qui montrent que le BPA se distribue dans le tissu adipeux. Les auteurs expliquent que la distribution dépend de la perfusion et de la composition tissulaire, mais aussi de la capacité métabolique du tissu, et que même si le BPA se distribue fortement dans le tissu adipeux, il n'y a pas de stockage de la molécule dans ce type de tissu. En effet l'équilibre des concentrations entre le tissu adipeux et le sérum est rapide soulignant ainsi le caractère non persistant du BPA (14).

Les valeurs de $t_{1/2}$ et MRT prennent en compte à la fois la distribution et la clairance d'une molécule. Or nous avons montré que la clairance plasmatique du BPA ne différait pas selon l'état d'engraissement ou le statut prandial, ce qui indique que l'augmentation des valeurs de $t_{1/2}$ et MRT chez les chiennes obèses résulte de l'augmentation du volume de distribution.

Nous avons également mis en évidence que le MRT du BPA des chiennes à jeun était significativement supérieur à celui des chiennes après une prise alimentaire (valeur moyenne $56,8 \pm 20,1$ min *versus* $39,3 \pm 13,7$ min), quelque soit l'état d'engraissement des animaux. Ce résultat n'est pas en faveur de notre hypothèse de départ puisque le BPA semble persister plus longtemps lorsque les chiennes sont à jeun que suite à une prise alimentaire.

L'évolution des concentrations plasmatiques en BPA-G au cours du temps est très similaire quelque soit l'état d'engraissement et le statut prandial et ne met pas en évidence d'effet marqué de ces paramètres sur la disposition du BPA. Cependant, nous avons montré que la concentration maximale plasmatique (C_{max}) de BPA-G était significativement supérieure chez les chiennes à jeun et que les aires sous la courbe de concentration en BPA-G, étaient également significativement plus importantes chez les chiennes à jeun que suite à un repas. De plus, la clairance apparente du BPA-G des chiennes à jeun est significativement plus faible que celle des chiennes après un repas ce qui traduit une augmentation de la capacité d'élimination du BPA-G suite à un repas. Ces résultats sont compatibles avec le fait que chez le chien, le BPA-G n'est pas seulement éliminé par les urines mais aussi par voie biliaire. En effet, dans le cas d'une prise alimentaire, la vésicule biliaire se contracte et se vide au passage des aliments dans le duodénum et la sécrétion de bile est accrue. Etant donné

qu'une partie conséquente du BPA est éliminé sous forme de BPA-G par voie biliaire, une sécrétion plus importante de bile par le foie pourrait expliquer l'élimination plus importante du BPA-G suite à une prise alimentaire.

Les résultats obtenus dans cette étude ne sont pas en faveur de notre hypothèse puisque la clairance plasmatique du BPA n'a pas différé selon l'état d'engraissement ou le statut prandial. Les variations des paramètres pharmacocinétiques observées ne sont pas de nature à expliquer les concentrations plasmatiques élevées chez l'homme.

III.3 Etude 3 : Evaluation du passage du BPA suite à une administration de BPA par voie sublinguale chez le chien (essai pilote)

III.3.1 Evolution temporelle des concentrations plasmatiques en BPA et BPA-G

Durant cette expérience, des problèmes méthodologiques liés à l'administration de la solution ont été rencontrés :

- La solution de BPA appliquée sur la muqueuse sublinguale des 2 chiens a précipité pour former des petites plages de précipité blanc (Photo 1).

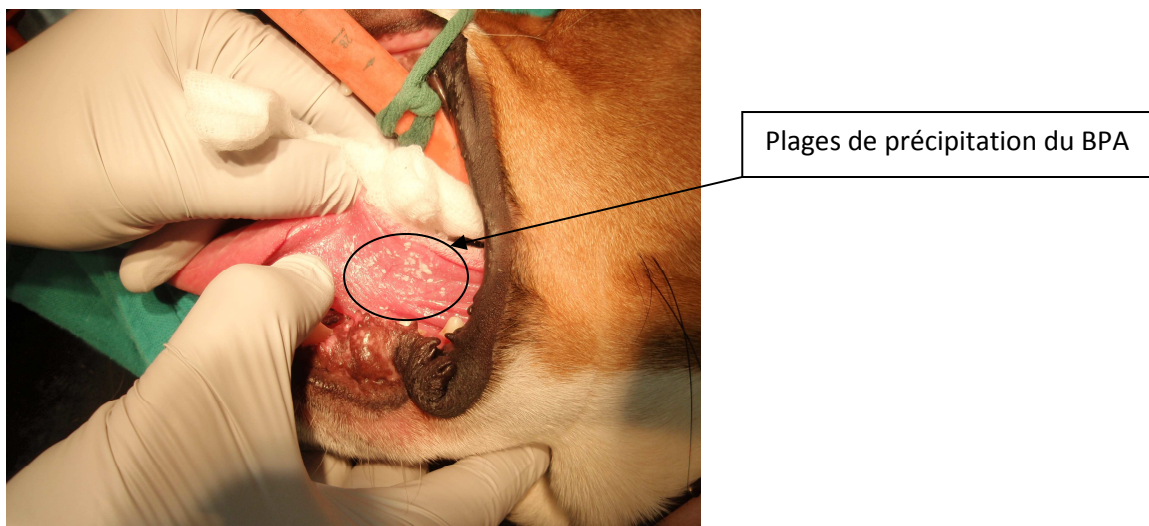


Photo 1 : Précipitation du BPA sur la muqueuse sublinguale

- La quantité de BPA précipité a été moins importante pour le Chien BS.

- Après une heure d'anesthésie lorsque la sonde endo-trachéale a été retiré et la langue rincée et nettoyée, du BPA précipité était présent sur la partie proximale de cette

sonde. En raison de ce problème, la dose réelle de BPA administrée par cette voie n'a pas pu être déterminée précisément.

Les tableaux 7 et 8 suivants présentent les valeurs de concentration plasmatiques en BPA et BPA-G obtenues aux différents temps après l'administration de BPA pour les 2 chiens :

Temps (h)	BPA plasma (ng/ml)	BPA-G plasma (ng/ml)
0	ND	ND
0.03	1661.4	229.4
0.07	2344.8	1632.3
0.13	8629.8	5409.7
0.25	1662.6	13851.9
0.50	3217.0	27915.2
1	1967.2	32409.3
1.5	7635.1	37077.9
2	1573.8	58843.4
3	442.3	18891.8
4	ND	1531.3
6	164.9	11017.4
8	ND	1077.5
10	ND	1226.8
12	ND	873.3
24	13.7	790.1

Tableau 7 : Valeurs des concentrations plasmatiques en BPA et BPA-G aux différents temps, après l'administration de BPA par voie sublinguale à la dose de 20 mg/kg pour le chien BS (ND = Non Détecté).

Temps (h)	BPA plasma (ng/ml)	BPA-G plasma (ng/ml)
0	ND	ND
0.03	24.7	ND
0.07	241.0	20.0
0.13	379.8	227.0
0.25	1054.4	2570.4
0.50	1285.9	8870.1
1	710.9	12761.7
1.5	2323.8	16893.3
2	700.5	35558.6
3	165.7	16103.4
4	100.8	9424.4
6	37.0	1132.6
8	ND	3746.7
10	3.7	837.5
12	ND	620.3
24	13.1	1278.7

Tableau 8 : Valeurs des concentrations plasmatiques en BPA et BPA-G aux différents temps, après l'administration de BPA par voie sublinguale à la dose de 20 mg/kg pour le chien BM (ND = Non Détecté).

Pour ces 2 tableaux, les parties grisées correspondent à la durée d'anesthésie et au maintien de la solution de BPA sur la muqueuse sublinguale.

Les figures 6, 7, 8 et 9 suivantes montrent l'évolution temporelle des concentrations en BPA et BPA-G au cours du temps après l'administration sublinguale :

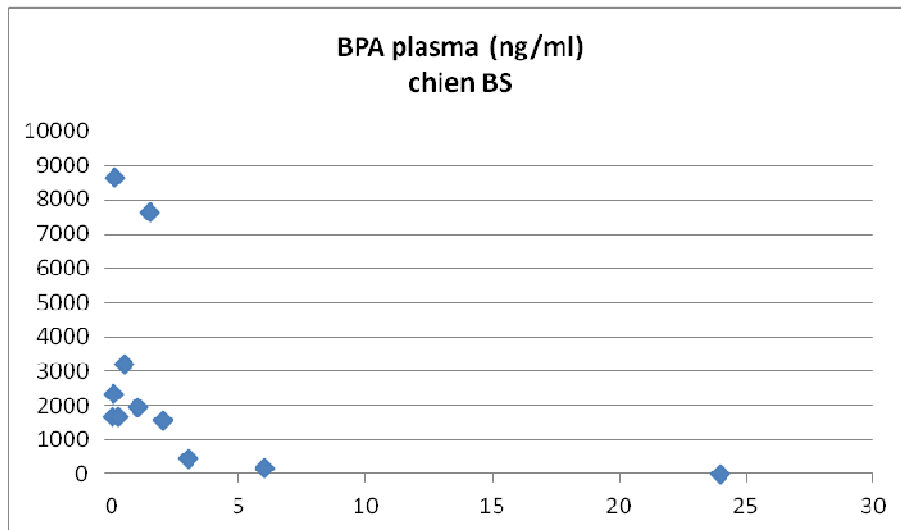


Figure 6 : Evolution de la concentration plasmatique du BPA, au cours du temps (h), après l'administration de BPA par voie sublinguale à la dose de 20 mg/kg pour le chien BS.

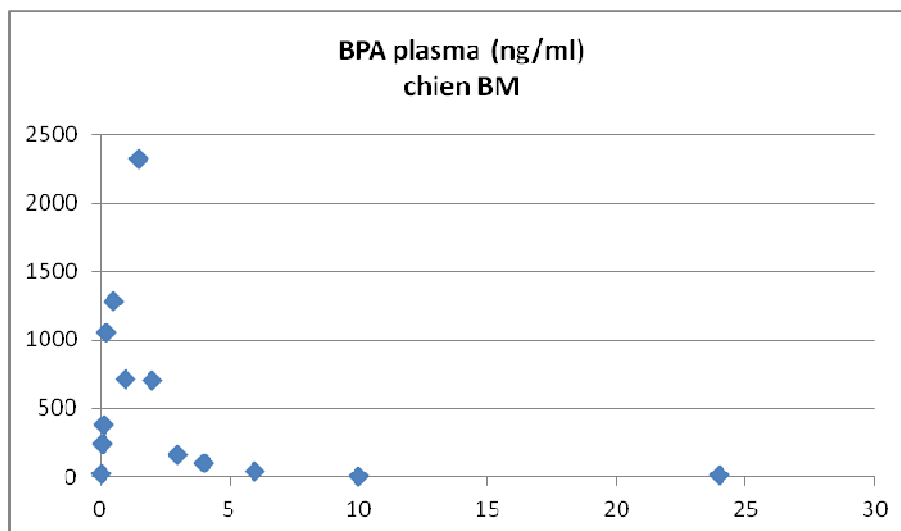


Figure 7 : Evolution de la concentration plasmatique du BPA, au cours du temps (h), après l'administration de BPA par voie sublinguale à la dose de 20 mg/kg pour le chien BM.

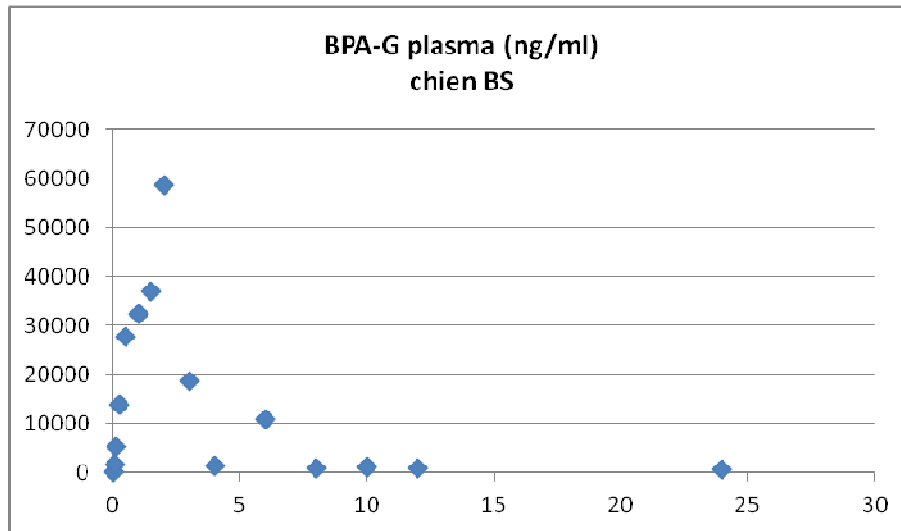


Figure 8 : Evolution de la concentration plasmatique du BPA-G, au cours du temps (h), après l'administration de BPA par voie sublinguale à la dose de 20 mg/kg pour le chien BS.

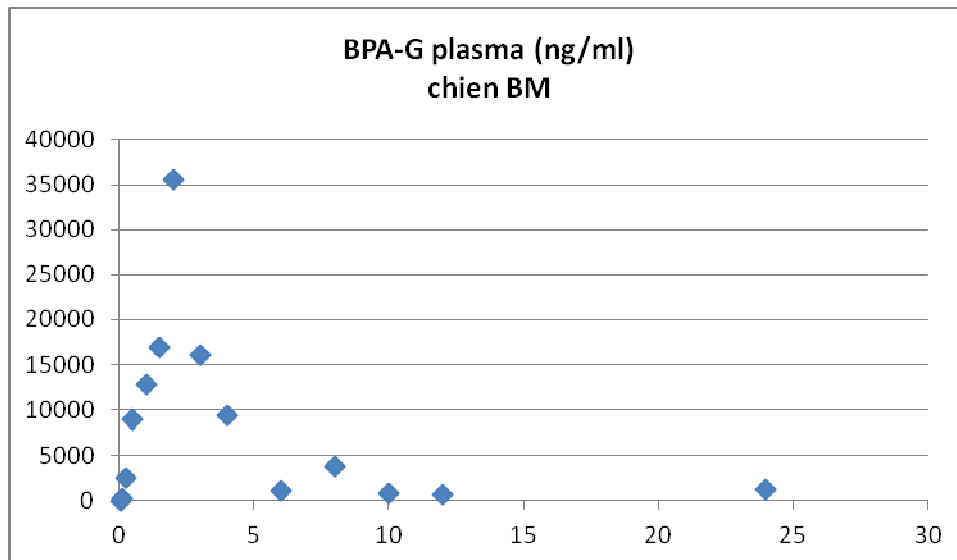


Figure 9 : Evolution de la concentration plasmatique du BPA-G, au cours du temps (h), après l'administration de BPA par voie sublinguale à la dose de 20 mg/kg pour le chien BM.

L'observation visuelle des figures précédentes montre que suite à l'administration par voie sublinguale d'une solution de BPA à la dose de 20 mg/kg, la concentration maximale (C_{max}) est atteinte très rapidement chez le chien BS puisque le pic de concentrations de BPA est atteint seulement 8 minutes après l'application de la solution de BPA sur la muqueuse. La valeur de C_{max} obtenue chez cet animal est très importante (8,63 µg/mL). De plus, chez ce même chien la concentration plasmatique en BPA décroît rapidement et devient très proche de la LOQ en 6 heures, mais les concentrations sont encore quantifiables 24 heures post-administration. La courbe d'évolution temporelle de la concentration plasmatique en BPA-G

chez ce même chien montre que le pic de concentrations est atteint 2 heures après l'administration, avec par la suite des valeurs qui décroissent et se rapprochent de la LOQ dans les 10 heures post-administration. Par ailleurs, chez le chien BM, la Cmax est atteinte plus lentement et on observe le pic de concentration moins de 90 minutes après l'administration de la solution de BPA sur la muqueuse sublinguale. Les concentrations plasmatiques chez cet animal sont d'ailleurs beaucoup moins importantes puisque le pic atteint une valeur de 2,32 µg/mL. Chez ce chien l'élimination du BPA est rapide puisque les concentrations plasmatiques du BPA diminuent et se rapprochent de la LOQ au bout de 6 heures post-administration. Chez ce chien le BPA est encore détectable au bout de 24 heures après l'administration. L'évolution temporelle des concentrations plasmatiques en BPA-G chez le chien BM est très similaire à celle obtenue chez le Chien BS.

III.3.2 Discussion

L'objectif de cette étude était d'évaluer le passage du BPA après l'administration de BPA par voie sublinguale.

Les problèmes rencontrés lors de la phase expérimentale de cette étude nécessitent d'interpréter les résultats obtenus avec circonspection. En effet, le fait que la solution de BPA ait précipité implique qu'il est impossible de connaître avec exactitude la quantité de BPA qui a été administrée aux deux chiens durant leur anesthésie puisqu'une grande partie du BPA est resté sous forme solide après l'application et a été retirée à la fin de l'anesthésie. Les concentrations plasmatiques en BPA et en BPA-G détectées durant cette étude semblent ainsi fortement sous estimées par rapport à la dose nominale.

Cette difficulté méthodologique explique la différence d'évolution des concentrations plasmatiques en BPA entre les 2 chiens. En effet, comme cité précédemment, chez le Chien BS la quantité de BPA précipité a été moins importante que celle du chien BM.

Si nous comparons l'évolution temporelle des concentrations plasmatiques de BPA et de BPA-G obtenues dans notre étude aux courbes d'évolution des concentrations plasmatiques en BPA et BPA-G suite à une administration chez le chien de BPA par voie orale à la dose de 100 mg/kg, déterminées dans l'étude de comparaison interspécifique de **S. Collet (11)** (Figure 10 et 11), on peut en déduire que :

Les valeurs maximales des concentrations plasmatiques en BPA observées après l'administration par voie orale de BPA à la dose de 100 mg/kg sont d'environ 350 ng/mL.

Cette valeur est 25 fois moins importante que celle obtenue après l'administration de BPA par voie sublinguale à la dose de 20 mg/kg (soit une dose 5 fois inférieure) chez le chien BS. Si l'hypothèse d'une linéarité de la disposition du BPA est vérifiée, on peut en déduire que l'exposition interne au BPA associée à un passage sublingual est environ 125 fois supérieure à celle obtenue lorsque le BPA est absorbé par voie digestive.

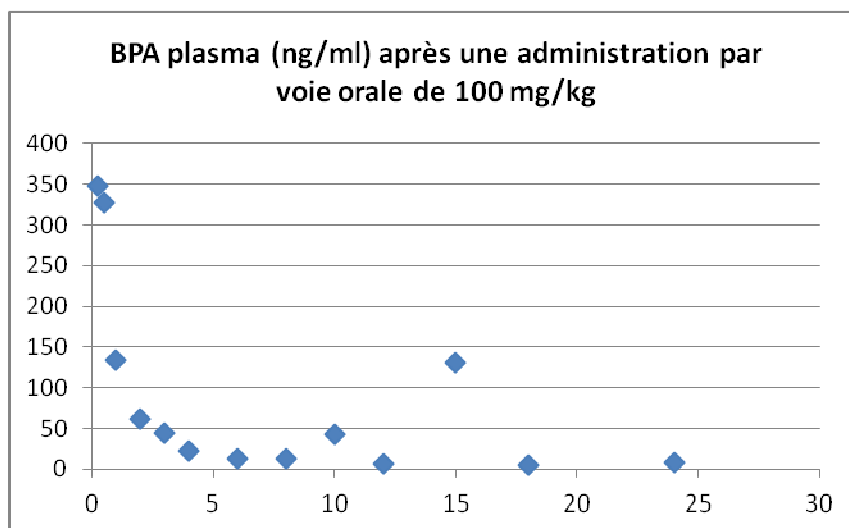


Figure 10 : Evolution de la concentration plasmatique du BPA au cours du temps (h), après l'administration de BPA par voie orale à la dose de 100 mg/kg chez le chien (11).

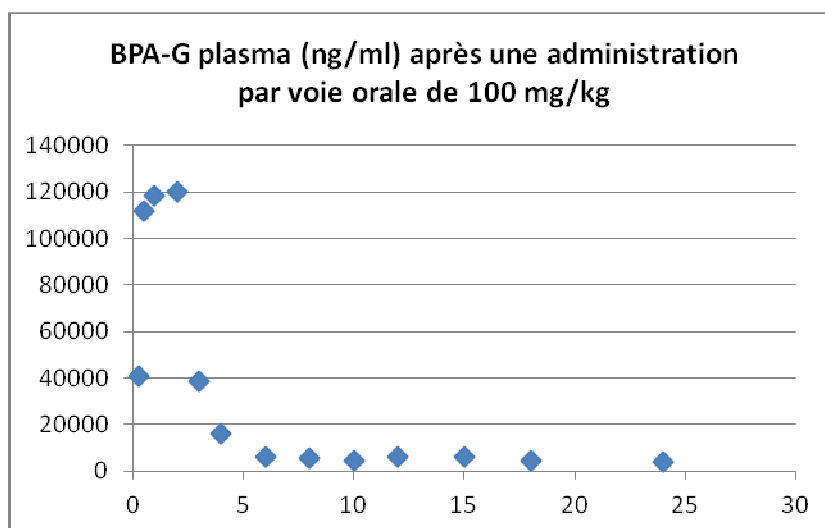


Figure 11 : Evolution de la concentration plasmatique du BPA-G au cours du temps (h), après l'administration de BPA par voie orale à la dose de 100 mg/kg chez le chien (11).

Ces résultats montrent une forte et rapide absorption du BPA par la muqueuse sublinguale. Il est toutefois important de noter que les concentrations plasmatiques élevées de BPA au cours des minutes qui suivent l'application sublinguale de cette molécule peuvent

résulter de son passage direct de la veine sublinguale dans la veine jugulaire avant sa dilution dans la circulation générale.

Les résultats obtenus dans cet essai suggèrent donc que le BPA est très bien absorbé par voie sublinguale, qui évite l'effet de premier passage hépatique propre à la voie orale. Un tel mécanisme d'absorption du BPA pourrait expliquer l'existence de concentrations plasmatiques élevées telles que celles décrites dans les études de biosurveillance humaine. Cependant, il est nécessaire de renouveler cette étude en réévaluant les modalités d'administration afin d'éviter les problèmes méthodologiques rencontrés durant la phase expérimentale. Il faudrait diminuer la dose administrée et donc la concentration de la solution, mais aussi effectuer les prélèvements sanguins dans une autre veine que la veine jugulaire, comme par exemple la veine brachio-céphalique ou la veine saphène. Un autre point essentiel est de vérifier que l'anesthésie, qui est nécessaire pour pouvoir appliquer correctement la solution de BPA sur la muqueuse sublinguale, n'exerce aucun effet sur la pharmacocinétique du BPA par exemple en réduisant fortement la clairance, ce qui pourrait alors expliquer des concentrations plasmatiques aussi importantes. Ce type d'interaction a déjà été observé dans une étude de 2007 dans laquelle une équipe de Californie a mis en évidence qu'une anesthésie générale à l'aide d'isoflurane altérait significativement la pharmacocinétique du Fentanyl (un analgésique) et de son métabolite en réduisant considérablement leurs clairances respectives (46).

Conclusion

Le Bisphénol A (BPA) du fait de son ubiquité dans l'environnement est actuellement le sujet de nombreux débats, essentiellement centrés sur le risque potentiel pour la santé humaine lié ses effets sur l'organisme humain. Un des principaux sujets de débat concerne la validité des études de biosurveillance de l'exposition au BPA, réalisées durant ces dix dernières années qui ont mis en évidence des concentrations plasmatiques en BPA élevées chez l'homme (de l'ordre du ng/mL), soit environ 1000 fois supérieure aux valeurs prédites à partir de la pharmacocinétique chez l'homme et des niveaux d'exposition externe. Cependant, il est très important de caractériser l'exposition interne de l'homme à cette molécule afin de pouvoir extrapoler les résultats des études toxicologiques de l'animal à l'homme.

L'objectif de notre démarche expérimentale était d'utiliser le modèle du chien pour mettre à l'épreuve différentes hypothèses qui pourraient expliquer les valeurs de concentrations plasmatiques élevées de la population humaine.

Notre première hypothèse était que l'exposition externe de l'homme au BPA est en fait bien plus importante que les estimations publiées dans la littérature, ce qui pourrait expliquer, des concentrations plasmatiques supérieures à celles attendues normalement. Pour cela nous avons entrepris l'évaluation de l'exposition interne de chiens de propriétaires comme animal sentinelle de l'exposition humaine au BPA d'origine environnementale. L'utilisation du chien se justifie par le fait que cet animal vit dans le même milieu que l'homme et est susceptible d'être exposé au BPA par voie alimentaire, cutanée ou par les poussières. Les propriétaires ont en parallèle répondu à un questionnaire visant à renseigner sur le milieu et le mode de vie de leur animal à travers de nombreux aspects (alimentation, habitat, accessoires, comportement...).

Sur la totalité des chiens de propriétaire prélevés, un seul échantillon a présenté une valeur de concentration plasmatique en BPA supérieure à la limite de quantification (LOQ). Une contamination de l'échantillon est fortement suspectée puisque chez ce chien le questionnaire n'a révélé aucun facteur favorisant une exposition externe importante. De plus, la concentration plasmatique en BPA-G s'est révélée inférieure à la LOQ pour cet animal. Ces résultats ne sont donc pas en faveur d'un niveau élevé d'exposition externe au BPA de l'homme, mais certains points sont critiquables. En effet, cette étude s'est déroulée sur un très faible effectif qui de plus était entièrement constitué de chiens appartenant à des étudiants

vétérinaires. Or, comme cité précédemment, l'alimentation distribuée à ces animaux est très influencée par ce statut de vétérinaire qui aura plutôt tendance à donner des croquettes et des récompenses en faible quantité. C'est pourquoi il serait préférable de réaliser une telle étude sur une population plus importante (100 à 200 chiens) et provenant de différents milieux de vie afin d'avoir un aperçu plus objectif de l'exposition externe au BPA.

Dans un deuxième temps nous avons émis l'hypothèse selon laquelle la clairance du BPA peut être diminuée sous l'influence de certains facteurs physiologiques, expliquant ainsi certaines des concentrations élevées de BPA suite à une exposition à cette molécule. Nous avons évalué l'impact de la prise alimentaire (« effet alimentation » ou « food effect ») ainsi que celui de l'obésité sur la pharmacocinétique du BPA sur une population de 12 chiens avec un plan en cross-over, les deux groupes renfermant à la fois des chiennes d'un poids normal (standard de race) et des chiennes obèses.

La prise alimentaire n'a pas modifié significativement l'effet de premier passage hépatique. Les résultats obtenus dans cette étude ont permis de montrer que la persistance accrue du BPA chez les chiennes obèses était associée à une augmentation du volume de distribution sans modification de la clairance.

Nous avons également montré que la clairance apparente du Bisphénol A glucuronide (BPA-G), était significativement supérieure chez les chiennes après une prise alimentaire comparativement aux chiennes à jeun. Ce constat est compatible avec le fait que chez le chien, le BPA-G est en partie excrété via la bile, qui dans le cas d'un repas est fortement sécrétée par le foie et peut donc augmenter l'élimination du conjugué.

En conclusion l'obésité et « l'effet alimentation » ne semblent pas être des facteurs importants de variation de la pharmacocinétique du BPA et ne peuvent pas expliquer les concentrations plasmatiques élevées du BPA chez l'homme.

Enfin, nous avons examiné l'hypothèse d'une voie d'entrée du BPA différente de celles qui ont été prises en compte dans les études pharmacocinétiques précédentes et qui pourrait expliquer la présence de concentrations plasmatiques en BPA élevées chez l'homme. Etant donné le fort coefficient d'extraction hépatique du BPA, des concentrations plasmatiques élevées en BPA pourraient être expliquées par l'existence d'une voie d'entrée qui évite l'effet de premier passage hépatique conduisant à une conjugaison d'environ 99% du BPA absorbé par voie intestinale (considérée comme étant la voie d'entrée majeure du

BPA). L'existence de telles voies a déjà été envisagée et des études ont été menées pour évaluer le passage du BPA par inhalation et par voie transcutanée, mais ces deux voies se sont révélées très minoritaires. Nous avons donc évalué le passage du BPA par voie sublinguale. Pour cela, 2 chiens beagles ont été anesthésiés et du BPA leur a été appliqué directement sur la muqueuse sublinguale pendant une heure. Durant la phase expérimentale, une partie du BPA a précipité sur la muqueuse des deux chiens mais également sur la sonde endo-trachéale, ce qui implique que la dose de BPA réellement administrée aux animaux est inférieure à la dose nominale et n'est pas connue.

Les résultats obtenus ont montré une augmentation rapide des concentrations plasmatiques de BPA suite à l'administration par voie sublinguale puisque les concentrations maximales normalisée par la dose atteintes au bout de 8 minutes étaient 125 fois supérieures à celles obtenues suite à l'administration de BPA par voie orale conventionnelle, dans l'étude de **S. Collet 2011 (11)**. Ainsi, nos résultats suggèrent que le BPA est très bien absorbé par la voie sublinguale. La pertinence de cette voie réside dans le fait qu'elle évite l'effet de premier passage hépatique et peut donc expliquer les fortes concentrations plasmatiques détectées dans les études de biosurveillance. Mais compte tenu des problèmes méthodologiques rencontrés, et également du fait que les animaux étaient anesthésiés, il est nécessaire de confirmer ce résultat et de vérifier l'absence d'impact de l'anesthésie sur la pharmacocinétique du BPA.

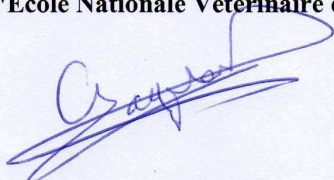
En conclusion, la forte absorption du Bisphénol A par voie sublinguale, très fortement suspectée au vu des résultats de notre dernière étude, pourrait expliquer les fortes concentrations plasmatiques retrouvées chez l'homme. En effet, même si l'exposition externe de l'homme au BPA semble faible, certains comportements comme par exemple le maintien dans la bouche d'objets plastiques contenant du polycarbonate, pourrait alors entraîner une exposition interne accrue au Bisphénol A. Cette étude ayant été réalisée sous la forme d'un essai pilote, il est nécessaire de la confirmer pour que cette voie d'entrée puisse être prise en compte dans l'interprétation des données de biosurveillance chez l'homme.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

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

Je soussignée, **Véronique GAYRARD**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Nicolas RUIZ** intitulée « *Utilisation du chien comme modèle d'étude de l'expression interne humaine au Bisphénol A et des facteurs de variations* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

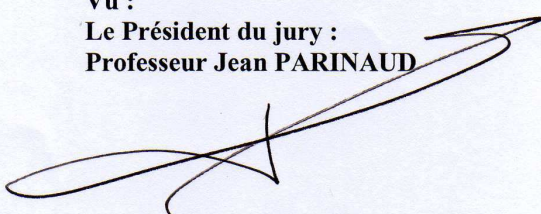
Fait à Toulouse, le 7 Juin 2012
Professeur Véronique GAYRARD
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
Le Directeur de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Professeur **Alain MILON**




Vu :
Le Président du jury :
Professeur **Jean PARINAUD**



Vu et autorisation de l'impression :
Le Président de l'Université
Paul Sabatier
Professeur **Bertrand MONTHUBERT**




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

Références bibliographiques

- (1) **Backer L.C., Grindem C.B., Corbett W.T., Cullins L., Hunter J.L.**, Pet dogs as sentinels for environmental contamination, *The Science of the Total Environment* 274: 2001: p161-169.
- (2) **Becker K, Goen T, Seiwert M, Conrad A, Pick-Fuss H, Muller J, Wittassek M, Schulz C, Kolossa-Gehring M.** GerES IV: phthalate metabolites and bisphenol A in urine of German children. *Int J Hyg Environ Health* 2009; 212 (6): p685-692.
- (3) **Biedermann, S., P. Tschudin, and K. Grob**, Transfer of bisphenol A from thermal printer paper to the skin. *Anal Bioanal Chem*, 2010. 398 (1): p571-576.
- (4) **Braniste, V.** La barrière intestinale, une nouvelle cible des œstrogènes et des xénoestrogènes : le cas du Bisphénol A. Thèse de doctorat : Pathologie, Toxicologie, Génétique & Nutrition : Toulouse : 2011. 179p.
- (5) **Brede, C., P. Fjeldal, I. Skjevrak, and H. Herikstad**, Increased migration levels of bisphenol A from polycarbonate baby bottles after dishwashing, boiling and brushing. *Food Addit Contam*, 2003. 20 (7): p.684-689.
- (6) **Brotons, J.A., M.F. Olea-Serrano, M. Villalobos, V. Pedraza, and N. Olea**, Xenoestrogens released from lacquer coatings in food cans. *Environ Health Perspect*, 1995. 103 (6): p.608-612.
- (7) **Calafat AM, Ye X, Wong LY, Reidy JA, Needham LL.** Exposure of the U.S. population to bisphenol A and 4-tertiary-octylphenol: 2003-2004. *Environ Health Perspect* 2008; 116 (1): p39-44.
- (8) **Cho, C.Y., B.S. Shin, J.H. Jung, D.H. Kim, K.C. Lee, S.Y. Han, et al.**, Pharmacokinetic scaling of bisphenol A by species-invariant time methods. *Xenobiotica*, 2002. 32 (10): p925-934.
- (9) **Christenson R.K., Ford J.J., Redmer D.A.**, Estradiol and testosterone metabolic clearance and production rates during puberal development in boars, *Biology of Reproduction* 31: 1984: p905-912.
- (10) **Claus R. and al.**, Rise of testosterone, nortestosterone, and 17 β -oestradiol concentrations in peripheral blood plasma of pigs after sublingual application in vivo, *Food and Chemical Toxicology* 45: 2007: p225-228.
- (11) **Collet, S.** Development of a physiologically-based toxicokinetic/toxicodynamic approach to assess the estrogenic effects of Bisphenol A. Thèse de doctorat : Biologie: Toulouse: 2011. 204p.
- (12) **Doerge DR., Fisher JW.** Metabolism and toxicokinetics of bisphénol A. In : *FAO/WHO Expert Meeting on Bisphenol A (BPA)*, 02-05 November 2010, Ottawa, Canada, 21p.
- (13) **Doerge DR, Twaddle NC, Vanlandingham M, Fisher JW.;** Pharmacokinetics of bisphenol A in neonatal and adult Sprague-Dawley rats; *Toxicol Appl Pharmacol.* 2010 Sep 1; 247 (2): p158-165.
- (14) **Doerge DR, Twaddle NC, Vanlandingham M, Fisher JW.;** Pharmacokinetics of bisphenol A in serum and adipose tissue following intravenous administration to adult female CD-1 mice; *Toxicol Lett.* 2012 Jun 1; 211 (2): p114-119.

- (15) **Doerge, D.R., Twaddle NC, Woodling KA, and Fisher JW**, Pharmacokinetics of bisphenol A in neonatal and adult rhesus monkeys. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010. 248 (1): p1-11.
- (16) **EFSA**, Opinion of the Scientific Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) on request from the comission related to 2,2-bis(4-hydroxyphenyl)propane (bisphenol A) Question member EFSA-Q-2005-100, adopted on 29 November 2006. *The EFSA Journal* 428: p1-75, 2006.
- (17) **EFSA Panel on food contact materials, enzymes, flavourings and processing aids (CEF)**. Scientific Opinion on Bisphenol A: evaluation of a study investigating its neurodevelopmental toxicity, review of recent scientific literature on its toxicity and advice on the Danish risk assessment of Bisphenol A. *EFSA Journal* 2010; 8 (9): 1829. 110p.
- (18) **FAO & WHO**. Toxicology and Health aspects of bisphénol A. In : Report of joint FAO/WHO Expert Meeting, 02-05 November 2010, Ottawa, Canada, and Report of Stakeholder meeting on Bisphenol A, 01 November 2010: Ottawa, Canada: 60p.
- (19) **Fernandez M.F., Arrebola J.P., Taoufiki J., Navalón A., Ballesteros O., Pulgar R., Vilchez J.L., Olea N.**, Bisphenol-A and chlorinated derivatives in adipose tissue of women, *Reproductive toxicology* 24: 2007: p259-264.
- (20) **Fung, E.Y., N.O. Ewoldsen, H.A. St Germain, Jr., D.B. Marx, C.L. Miaw, C. Siew, et al.**, Pharmacokinetics of bisphenol A released from a dental sealant. *J Am Dent Assoc*, 2000. 131 (1): p51-58.
- (21) **G.H.M. Biego, A.S.S. Oga, K.D. Yao, and L.P. Kouadio**, Evaluation of bisphenol A content in food from lacquered cans, *Chemical Society of Ethiopia*, Volume 24 (2): 2010.
- (22) **Groupe de Travail « Perturbateurs Endocriniens et Reprotoxiques de catégorie 3 » : Emond, C., Belzunces, L., et al.** Rapport d'expertise collective : Effets sanitaires du Bisphénol A, ANSES édition scientifique: Septembre 2011.
- (23) **Harris RZ, Jang GR, Tsunoda S**; Dietary effects on drug metabolism and transport; *Clin Pharmacokinet*. 2003; 42 (13): p1071-1088.
- (24) **He Y., Miao M., Herrinton L.J, Wu C., Yuan W., Zhou Z., Li D-K**, Bisphenol A levels in blood and urine in a Chinese population and the personal factors affecting the levels, *Environmental Research* 109: 2009: p629–633.
- (25) <http://www.bisphenol-a.org>
- (26) <http://www.efsa.europa.eu/fr>
- (27) **Inoue, H., G. Yuki, H. Yokota, and S. Kato**, Bisphenol A glucuronidation and absorption in rat intestine. *Drug Metab Dispos*, 2003. 31(1): p140-144.
- (28) **Inoue, H., H. Yokota, T. Makino, A. Yuasa, and S. Kato**, Bisphenol a glucuronide, a major metabolite in rat bile after liver perfusion. *Drug Metab Dispos*, 2001. 29 (8): p1084-1087.
- (29) **Kim K, Park H, Yang W, Lee JH**. Urinary concentrations of bisphenol A and triclosan and associations with demographic factors in the Korean population. *Environ Res*. 2011 Nov; 111 (8): p1280-1285.

- (30) **Kurosawa T, Hiroi H, Tsutsumi O, Ishikawa T, Osuga Y, Fujiwara T, Inoue S, Muramatsu M, Momoeda M, Taketani Y.** 2002 The Activity of Bisphenol A Depends on Both the Estrogen Receptor Subtype and the Cell Type. *Endocrine Journal* 49 (4): p465-471.
- (31) **Lacroix, M.Z., S. Puel, S.H. Collet, T. Corbel, N. Picard-Hagen, P. Toutain, et al.,** Simultaneous quantification of bisphenol A and its glucuronide metabolite (BPA-G) in plasma and urine: applicability to toxicokinetic investigations. *Talanta*, 2011. 85 (4): p2053-2059.
- (32) **Levret-corjon, A-S.** Mécanismes d'action du Bisphénol A sur la fonction gonadotrope chez la brebis prépubère. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse : 2011.
- (33) **Liao C, Kannan K.** High Levels of Bisphenol A in Paper Currencies from Several Countries, and Implications for Dermal Exposure. *Environ Sci Technol.* 2011 Jul 21.
- (34) **Loganathan, S.N. and K. Kannan,** Occurrence of bisphenol a in indoor dust from two locations in the eastern United States and implications for human exposures. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2011. 61 (1): p68-73.
- (35) **Mielke H., Partosch F., Gundert-Remy U.;** The contribution of dermal exposure to the internal exposure of bisphenol A in man; *Toxicology Letters* 204: 2011: p190-198.
- (36) **NTP-CERHR.** Monograph on the Potential Human Reproductive and Developmental Effects of Bisphenol A. September 2008. NIH Publication No. 08 – 5994. 321p.
- (37) **Nunez A.A., Kannan K., Giesy J.P., Fang J., Clemens L.G.,** Effects of Bisphenol A on energy balance and accumulation in brown adipose tissue in rats, 2001: *Chemosphere* 42: p917.
- (38) **Prins GS, Ye SH, Birch L, Ho SM, Kannan K.;** Serum bisphenol A pharmacokinetics and prostate neoplastic responses following oral and subcutaneous exposures in neonatal Sprague-Dawley rats; *Reprod Toxicol* 2011 Jan; 31 (1) : p1-9.
- (39) **Schmidt. P.L. et al.,** Companion Animals as Sentinels for Public Health, 2009, *Vet Clin Small Anim:* vol 39 : p241-250.
- (40) **Shin, B.S., C.H. Kim, Y.S. Jun, D.H. Kim, B.M. Lee, C.H. Yoon, et al.,** Physiologically based pharmacokinetics of bisphenol A. *J Toxicol Environ Health A*, 2004. 67 (23-24): p1971-1985.
- (41) **Shojaei A.H.,** Buccal mucosa as a route for systemic drug delivery, A review : *J Pharm Pharmaceut Sci* 1: 1998: p15-30.
- (42) **Sieli P.T., Jašarevic E., Warzak D.A., Mao J., Ellersieck M.R., Liao C., Kannan K., Collet S.H., Toutain P-L, vom Saal F.S., Rosenfeld C.S.,** Comparison of Serum Bisphenol A Concentrations in Mice Exposed to Bisphenol A through the Diet versus Oral Bolus Exposure, *Environ Health Perspect* 119: 2011: p1260–1265.
- (43) **Small, M., Lavoie, E., Ranslow, P.** The Latest Science on Bisphenol A, Health and Exposure – January to July 2010. *Toxics Action Center review:* August 2010: 23p.
- (44) **Snyder, R.W., S.C. Maness, K.W. Gaido, F. Welsch, S.C. Sumner, and T.R. Fennell,** Metabolism and disposition of bisphenol A in female rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2000. 168 (3): p225-34.

- (45) **Tam Y.K. and al.**, Individual variation in first-pass metabolism, *Clin. Pharmacokinet* 25 (4): 1993: p300-328.
- (46) **Thomasy SM, Mama KR, Whitley K, Steffey EP, Stanley SD.**, Influence of general anaesthesia on the pharmacokinetics of intravenous fentanyl and its primary metabolite in horses. *Equine Vet J* : volume 39 (1) : Janvier 2007 : p54-58.
- (47) **Tyl, R.W., C.B. Myers, M.C. Marr, B.F. Thomas, A.R. Keimowitz, D.R. Brine, et al.**, Three-generation reproductive toxicity study of dietary bisphenol A in CD Sprague-Dawley rats. *Toxicol Sci*, 2002: 68 (1): p121-46.
- (48) **Tyl, R.W., C.B. Myers, M.C. Marr, C.S. Sloan, N.P. Castillo, M.M. Veselica, et al.**, Two-generation reproductive toxicity study of dietary bisphenol A in CD-1 (Swiss) mice. *Toxicol Sci*, 2008: 104 (2): p362-84.
- (49) **Vandenberg L.N., et al**; Urinary, Circulating and Tissue Biomonitoring studies indicate widespread exposure to Bisphenol A; *Environ Health Perspect* 118 (8): Aug 2010: p1055-1070.
- (50) **Vandenberg, L.N., R. Hauser, M. Marcus, N. Olea, and W.V. Welshons**, Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reprod Toxicol*, 2007. 24 (2): p139-77.
- (51) **Verner, M.A., T. Magher, and S. Haddad**, High concentrations of commonly used drugs can inhibit the in vitro glucuronidation of bisphenol A and nonylphenol in rats. *Xenobiotica*, 2010 : 40 (2): p83-92.
- (52) **Volkel, W., M. Kiranoglu, and H. Fromme**, Determination of free and total bisphenol A in human urine to assess daily uptake as a basis for a valid risk assessment. *Toxicol Lett*, 2008 : 179 (3): p155-162.
- (53) **Volkel, W., N. Bittner, and W. Dekant**, Quantitation of bisphenol A and bisphenol A glucuronide in biological samples by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Drug Metab Dispos*, 2005 : 33 (11): p1748-57.
- (54) **Volkel, W., T. Colnot, G.A. Csanady, J.G. Filser, and W. Dekant**, Metabolism and kinetics of bisphenol a in humans at low doses following oral administration. *Chem Res Toxicol*, 2002 : 15 (10): p1281-1287.
- (55) **Wilkinson G.R., and al.**, The effects of diet, aging and disease-states on presystemic elimination and oral drug bioavailability in humans, *Advanced Drug Delivery Reviews* 27: 1997: p129-159.
- (56) **Wilson, N.K., J.C. Chuang, M.K. Morgan, R.A. Lordo, and L.S. Sheldon**, An observational study of the potential exposures of preschool children to pentachlorophenol, bisphenol-A, and nonylphenol at home and daycare. *Environ Res*, 2007 : 103 (1): p9-20.
- (57) **Yoo, S.D., B.S. Shin, B.M. Lee, K.C. Lee, S.Y. Han, H.S. Kim, et al.**, Bioavailability and mammary excretion of bisphenol a in Sprague-Dawley rats. *J Toxicol Environ Health A*, 2001 : 64 (5): p417-426.
- (58) **Zalko D. et al**; Viable skin efficiently absorbs and metabolizes bisphenol A; *Chemosphere*. 2011 Jan: 82 (3) : p424-430.

Annexe 1

Questionnaire : Enquête sur l'exposition du chien au Bisphénol A

Nom : Prénom : Téléphone :

Nom de l'animal :

Date de naissance : Poids : Race :

Sexe : Mâle Femelle

Statut physiologique : Gravide Stérilisé(e) Intact(e)

Votre animal présente-t-il un statut pathologique ? Oui Non

Si oui, lequel ? :.....

Heure du prélèvement :

Heure de centrifugation :

Identification échantillon :

(Veuillez cocher la/les réponse(s) correspondante(s))

1- Délai entre le dernier repas de votre animal et le prélèvement

- Moins d'1h
- Plus de 3h
- Plus de 12h

2- Votre animal est nourri principalement:

- Avec de la nourriture en boîte de conserve
- Avec de la pâtée en sachet
- Avec des croquettes
- Avec une ration ménagère

3- Dans le cas d'une ration ménagère :

- Apports protéiques :

Précisez le type d'emballage de la viande (bœuf, poulet...) / poisson :.....

- Source de lipides :

- Huile stockée en bouteille plastique
- Huile stockée en bouteille de verre

- Sources de fibres :

- Légumes frais

- Bocal de verre
- Conserves
- Surgelés

- La nourriture est :

- Servie crue (excepté les féculents)
- Servie cuite

4- Toujours dans le cas d'une ration ménagère, la nourriture est :

- Stockée dans des contenants plastiques (Tupperware...)
- Stockée dans des contenants autres
- Préparée avant chaque repas

5- Dans le cas d'une ration ménagère stockée en contenant plastiques, la portion est :

- Réchauffée au micro-onde avant les repas
- Servie directement froide

6- Votre animal reçoit-il des « à côtés » :

- Oui
- Non

7- Si oui, précisez la nature des emballages de ces « à côtés » :

.....

8- Votre animal mange (et boit) :

- Dans une gamelle en métal
- Dans une gamelle en plastique (préciser)
- Autre. Précisez :.....

9- Votre animal possède des jouets :

- En tissu
- En plastique
- En caoutchouc
- Autre. Précisez :

10- Dans le cas de jouets en plastique, votre animal a-t-il tendance à les mâchonner :

- Longtemps
- Très peu

11- Votre animal lèche-t-il des choses non alimentaires ?

- Si oui :
 - Jouets d'enfants
 - Tissus
 - Détritus
 - Mobilier (précisez :.....)
 - Autre, précisez :
- Non

12- Votre animal dort :

- Dans un bac en plastique avec ou sans matelas
- Sur un autre type de couchage (Précisez :.....)

13- Vous vivez :

- En ville
- En campagne
- En appartement
- En maison avec jardin
- En maison sans jardin

14- Votre animal vit :

- A l'intérieur la plupart du temps
- A l'extérieur la plupart du temps
- Dehors le jour dedans la nuit

15- Votre animal reçoit-il actuellement un traitement ?

- Oui
- Non

16- Si oui, lequel ? :.....

17- Vous fumez ?

- Oui, à l'extérieur uniquement
- Oui, chez vous comme à l'extérieur
- Non

18- Si vous fumez en intérieur, est ce que votre chien se trouve dans la même pièce ?

- Oui
- Non

Annexe 2

Paramètres PK du BPA obtenus pour chaque animal suite à une administration de BPA par voie i.v. à la dose de 10 mg/kg :

Chien	Statut	Condition	Beta_HL (min)	CL (ml/minxkg)	MRT (min)	VSS (ml/kg)	V2 (ml/kg)
AC	Normal	A jeun	28.8	101.3	31.2	3157.0	2557.6
AC	Normal	Repas	25.6	122.6	27.9	3414.2	2454.1
AD	Normal	A jeun	38.4	106.3	46.1	4896.9	2153.8
AD	Normal	Repas	16.5	117.7	20.6	2421.1	1531.7
AG	Normal	A jeun	48.3	70.3	57.1	4012.9	1519.0
AG	Normal	Repas	26.8	51.7	26.0	1345.9	1206.0
AH	Normal	A jeun	53.5	73.7	43.7	3224.0	1636.0
AH	Normal	Repas	71.2	74.2	41.1	3048.7	976.0
AI	Normal	A jeun	42.9	79.0	43.6	3442.2	807.4
AI	Normal	Repas	22.2	102.7	27.7	2846.2	2109.4
AJ	Normal	A jeun	26.5	78.3	31.4	2455.3	1001.0
AJ	Normal	Repas	26.4	160.4	30.1	4825.2	2605.6
A	Obèse	A jeun	64.0	52.2	67.2	3508.8	1761.6
A	Obèse	Repas	100.5	73.4	60.1	4410.4	1485.3
B	Obèse	A jeun	68.7	96.1	69.0	6628.7	4025.8
B	Obèse	Repas	68.2	87.1	55.7	4851.6	2286.6
C	Obèse	A jeun	84.7	87.5	90.6	7920.1	4011.3
C	Obèse	Repas					
E	Obèse	A jeun	95.2	36.3	92.3	3347.0	1801.8
E	Obèse	Repas	72.0	43.0	52.2	2244.3	1139.8
G	Obèse	A jeun	62.5	64.8	55.6	3605.5	2208.4
G	Obèse	Repas	57.3	82.2	49.1	4031.3	2131.8
H	Obèse	A jeun	51.0	90.0	53.8	4840.0	3148.5
H	Obèse	Repas	29.6	118.7	31.9	3785.3	2027.9

Paramètres PK du BPA-G obtenus pour chaque animal suite à une administration de BPA par voie i.v. à la dose de 10 mg/kg :

Chien	Etat	Statut	Tmax (min)	Cmax (µg/ml)	AUClast (µg.min/ml)	AUCinfobs (µg.min/ml)	Cl_F_obs (ml/kg.min)
AC	Normal	A jeun	15	12.04	2795.96	3203.37	5.52
AC	Normal	Repas	15	13.08	1277.53	1308.74	13.52
AD	Normal	A jeun	30	12.92	2408.68	3181.25	5.56
AD	Normal	Repas	8	12.91	1198.86	1392.93	12.7
AG	Normal	A jeun	8	20.58	3168.02	3287.08	5.38
AG	Normal	Repas	8	12.12	1492.39	1576.21	11.23
AH	Normal	A jeun	15	39.38	3902.95	4512.12	3.92
AH	Normal	Repas	4	18.46	1600.89	2612.89	6.77
AI	Normal	A jeun	15	15.49	2192.1	2458.77	7.2
AI	Normal	Repas	30	9.26	1360.34	1497.12	11.82
AJ	Normal	A jeun	15	27.1	4507.22	4552.35	3.89
AJ	Normal	Repas	8	14.68	1561.48	1604.74	11.03
A	Obèse	A jeun	4	21.43	2792.88	2885.9	6.13
A	Obèse	Repas	30	11.66	2897.71	3920.71	4.51
B	Obèse	A jeun	8	31.92	2080.78	2529.39	7
B	Obèse	Repas	8	24.5	1636.79	2262.13	7.82
C	Obèse	A jeun	8	31.92	2080.77	2529.29	7
C	Obèse	Repas					
E	Obèse	A jeun	8	31.92	2080.77	2529.39	7
E	Obèse	Repas	15	11.3	2271.08	2352.11	7.52
G	Obèse	A jeun	15	36.79	3497.51	4035.27	4.39
G	Obèse	Repas	8	18.41	2667.27	3363.88	5.26
H	Obèse	A jeun	8	11.98	2690.78	2888.34	6.13
H	Obèse	Repas	8	13.94	1077.3	1203.3	14.7

Toulouse, 2012

NOM : RUIZ

Prénoms : Nicolas, Stéphane

TITRE : Utilisation du chien comme modèle d'étude de l'exposition interne humaine au Bisphénol A et de ses facteurs de variation.

RESUME : L'évaluation de l'exposition humaine au Bisphénol A (BPA) fait l'objet de controverses liées à l'incohérence entre le niveau estimé relativement faible de l'exposition externe au BPA, essentiellement à travers l'alimentation, le fort effet de premier passage hépatique du BPA et certaines des valeurs élevées de l'exposition interne (concentrations plasmatiques). Pour apporter des éléments de réponse à cette problématique, dans un premier temps, nous avons évalué les concentrations plasmatiques en BPA de 24 chiens de propriétaires dans les conditions d'exposition environnementale et la présence de BPA a été détectée sur un seul animal. Dans un deuxième temps, nous avons analysé l'impact de l'obésité et de la prise alimentaire sur la clairance du BPA et nous avons montré que ces deux facteurs n'ont pas d'impact sur ce paramètre pharmacocinétique. Enfin, nous avons examiné l'hypothèse d'un passage du BPA par voie sublinguale et nos résultats préliminaires indiquent qu'elle constitue une voie possible d'entrée du BPA.

Mots clés : Bisphénol A, chien, sentinelle, exposition, effet alimentation, obésité, sublingual

TITLE : The dog as a model to identify the human internal exposure to Bisphenol A and its variation factors.

ABSTRACT : The evaluation of human exposure to BPA is currently subjected to controversies due to inconsistencies between the relatively low level of estimated external exposure to BPA (essentially through diet), the highly first-pass effect of BPA and some of the high values of internal exposure (plasma concentrations). In order to provide some answers to this issue, we firstly evaluated the internal exposure to BPA of 24 owner's dogs under environmental exposure, but only one of tested animals exhibited a BPA plasma concentration over the limit of quantification. In a second time, we estimated the impact of obesity and food intake on BPA clearance and we showed that these two factors had no impact on this pharmacokinetic parameter. We finally examined the passage of BPA from sublingual route and our preliminary results suggest that it constitutes a possible entry route of BPA.

Key words : Bisphenol A, dog, sentinel, exposure, food effect, obesity, sublingual