

LE BISPHENOL A : UN PERTURBATEUR ENDOCRINIEN ET METABOLIQUE

par **Patrick FENICHEL**, **Nicolas CHEVALIER** et **Françoise BRUCKER-DAVIS** (Nice)

■ *Le bisphénol-A (BPA) est une substance chimique très ubiquitaire présente dans la plupart des plastiques polycarbonés et les résines epoxy, relarguée sous l'effet de la chaleur, considérée comme présentant un effet de perturbateur endocrinien estrogénomimétique. Il est essentiellement absorbé dans l'espèce humaine par voie alimentaire et est retrouvé sous forme libre active dans le sang à des taux de l'ordre de 1ng/ml et sous forme conjuguée dans les urines en vue d'élimination chez la majorité des individus.*

■ *La mise en évidence de troubles du développement, de la reproduction, du métabolisme chez les rongeurs exposés à des taux équivalents, dans des périodes critiques d'exposition fœtale et/ou périnatale, a conduit à s'interroger sur sa responsabilité dans les pathologies humaines correspondantes.*

■ *D'autant qu'il est capable d'induire in vitro sur des cellules humaines via des récepteurs membranaires des estrogènes, la prolifération de cellules malignes mammaires ou testiculaires ou d'adipocytes et de réguler la sécrétion insulinaire par des îlots β -pancréatiques.*

■ *Bien que des études épidémiologiques transversales, rétrospectives mettent en évidence une corrélation entre obésité, insulino-résistance, diabète, hypofertilité et les taux urinaires de BPA conjugués, elles ne permettent pas à elles seules d'attester d'une relation causale et d'évaluer exactement la part de ce facteur potentiel de risque. Seules des études prospectives longitudinales pourraient conforter cette hypothèse ainsi que la caractérisation de biomarqueurs permettant à la fois d'évaluer l'exposition prolongée et continue de faibles doses de BPA et en même temps de mettre en évidence des modifications moléculaires épigénétiques (hyperméthylation / microARN) conduisant à faire la part de l'exposition chronique et de la susceptibilité individuelle.*

Mots-clé : Bisphénol A ; Xénoestrogènes ; Perturbateurs Endocriniens Environnementaux ; Exposition fœtale ; Récepteur membranaire des estrogènes ; Epigénétique ; Obésité ; Diabète ; Cancers hormono-dépendant.

INTRODUCTION

Le concept de perturbation endocrinienne est né il y a une vingtaine d'années (1) à la suite d'observations faites dans la faune et dans l'espèce humaine, liées à l'usage intensif de pesticides dans l'agriculture. Il fait référence aux substances chimiques naturelles et de synthèse capables d'interférer avec les récepteurs hormonaux et de générer en tant que ligand parasite des effets nocifs sur la santé (2). Plusieurs de ces substances, comme le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) ou d'autres produits organochlorés, se sont avérées estrogéniques ou anti-androgéniques susceptibles d'exercer des effets sur la reproduction et/ou le développement (3). Ces observations ont été mises en parallèle avec l'expérimentation involontaire de l'exposition fœtale au Distilbène (DES) chez les femmes enceintes traitées préventivement vis-à-vis du risque de fausses couches sponta-

nées dans les années 1950 à 1975 et dont les enfants ont présenté différentes pathologies du développement, malformations génitales, hypofertilité et cancers hormono-dépendants (4 ; 5). Les conséquences de l'exposition in utero au Distilbène ont attiré en outre l'attention sur cette période critique d'exposition aux perturbateurs endocriniens, pointant l'importance de l'environnement fœtal comme l'avait fait déjà auparavant David Barker (6) pour l'environnement nutritionnel avec son concept de programmation fœtale des pathologies chroniques adultes métaboliques et cardio-vasculaires. Mais l'évaluation du rôle de cette exposition sur la santé humaine, en dehors du cas exceptionnel et malheureux du Distilbène, s'avère en fait très difficile à démontrer sur le plan méthodologique à la fois en ce qui concerne l'aspect toxicologique, l'aspect épidémiologique ou l'aspect mécanistique. Elle constitue pourtant un challenge aussi bien pour les médecins et les scientifiques chargés d'apporter les preuves de la toxicité ou de l'innocuité d'une molécule que pour les politiques chargés de définir les normes des seuils tolérables d'exposition et d'établir les autorisations et/ou les interdictions de mise sur le marché (programme REACH).

Le cas du Bisphénol permet d'illustrer parfaitement ces concepts émergents et ces interrogations et devrait intéresser particulièrement les endocrinologues et les diabétologues dans la mesure où parmi les effets plausibles de ce perturbateur endocrinien environnemental (PEE) ont été rapportés des liens avec le diabète et l'obésité, la reproduction et les cancers hormono-dépendants, tel que l'a souligné en particulier pour les maladies métaboliques, le dernier rapport de l'ANSES en décembre 2011 (7).

HISTORIQUE

Produit chimique synthétisé au début du XX^{ème} siècle à partir de 2 molécules de phénol (bisphénol) et une molécule d'acétone (Bisphénol A), le BPA a d'abord contribué à la recherche d'un estrogène de synthèse, en raison d'un effet estrogénique mis en évidence sur l'utérus de rongeur (8). Mais il a été rapidement supplanté par le Diéthylstilbestrol (Distilbène), présentant une forte analogie structurale et un pouvoir estrogénique bien plus puissant. Le BPA s'est avéré par contre très performant dans la production de plastiques polycarbonés et de résines époxy en raison des propriétés de souplesse et de résistance à la chaleur qu'il introduisait et son utilisation s'est rapidement étendue à travers le monde à partir des années 60. Il est retrouvé aujourd'hui de façon extrêmement ubiquitaire dans l'environnement quotidien domestique ou industriel : à titre d'exemple, sacs plastique, biberons, bouteilles d'eau minérale, canettes de boissons et boîtes de conserve protégées par un fin film plastique interne, prothèses dentaire mais aussi ustensiles ménager, revêtements automobile intérieur, vernis, peintures, CD-Rom, etc... Sa production et consommation annuelle sont considérables estimées à plusieurs millions de tonnes. En fait, sa polymérisation incomplète favorise son relargage, accentué par l'élévation de la température ou les modifications de PH (9), comme par exemple à partir des contenants, ou des films plastiques utilisés dans les micro-ondes. Il est retrouvé dans 90 % des urines de la population américaine de référence à des concentrations comprises entre 0,2 et 1,6 ng/ml (0,88-7,0 nm) (10) ainsi que dans le sang, le lait maternel ou le liquide amniotique (11). Son analogie structurale avec le DES (Figure 1), son estrogénicité supposée et son exposition croissante ont entraîné la multiplication de tests toxicologiques chez les rongeurs, mettant en évidence surtout après exposition in utéro ou périnatale, à des taux faibles identiques à ceux retrouvés dans l'espèce humaine, des anomalies touchant le cerveau, le foie, l'intestin, le tissu adipeux, la fonction de reproduction, y

compris la glande mammaire ou la prostate (12 ; 13). Ces données expérimentales ont donné lieu par conséquent à des controverses grandissantes, d'abord aux États-unis puis en Europe et plus récemment en France, en ce qui concerne sa toxicité éventuelle pour l'espèce humaine et la définition des seuils acceptables d'exposition quotidienne voire sa véritable interdiction, même si celle-ci reste d'un point de vue pratique assez difficile à mettre en œuvre (14). Nous étudierons successivement pour les maladies métaboliques, diabète et obésité, la reproduction et les cancers hormono-dépendants, les différents arguments rendant plausible la responsabilité dans ces pathologies du BPA, à savoir, des arguments expérimentaux *in vivo* par exposition fœtale, périnatale ou adulte chez les rongeurs, des arguments expérimentaux *in vitro* sur des cultures de cellules humaines (îlots de Langerhans, adipocytes ou cellules cancéreuses mammaires ou testiculaires) et des arguments épidémiologiques, avant de répondre aux différentes questions soulevées par cette exposition ubiquitaire dans le cadre des débats et controverses actuels.

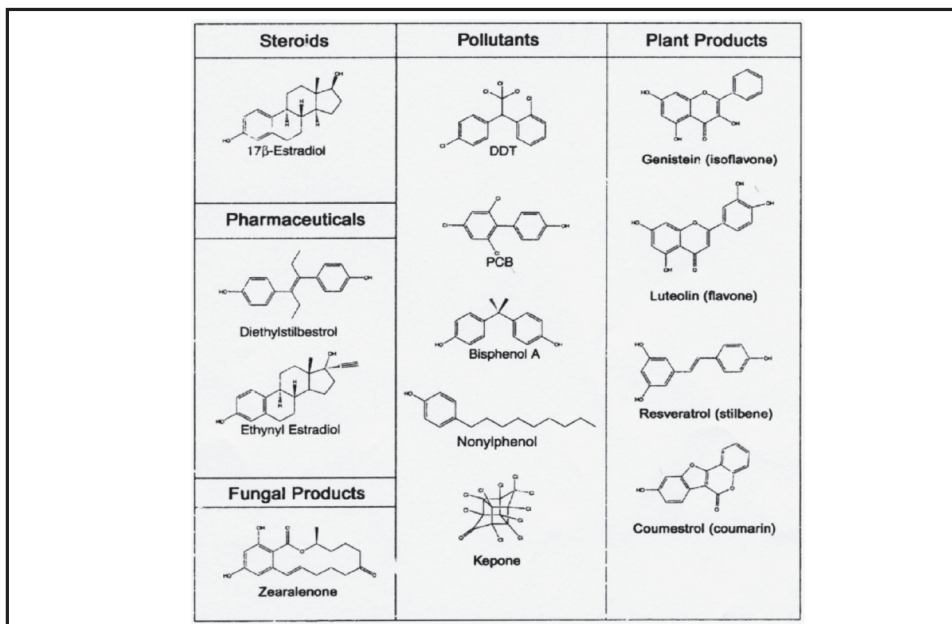


Figure 1. : **Les xénoestrogènes**

à noter l'analogie structurale du bisphénol A avec différents xénoestrogènes comme le diéthylstilbestrol, un estrogène de synthèse, le DDT, un pesticide organochloré, le PCB d'usage industriel et le resvératrol, un phytoestrogène.

OBESITE ET SYNDROME METABOLIQUE

Un rapport récent de l'ANSES, recommandait son interdiction du fait d'arguments indirects, l'associant à différentes pathologies avec les arguments les plus probants expérimentaux et épidémiologiques vis à vis de l'obésité, le syndrome métabolique et le diabète (7). En effet, l'exposition prénatale ou néonatale chez la souris à des faibles doses de BPA environnementalement compatibles, entraîne une augmentation du poids des animaux adultes, variable selon le sexe, la dose et la fenêtre d'exposition (15 ; 16 ; 17 ; 18 ; 19), et un syndrome métabolique (20). Un effet similaire est retrouvé avec le DES administré en

néonatal précoce (21). Sur des fibroblastes murins l'exposition au BPA stimule *in vitro* la différenciation adipocytaire et l'accumulation lipidique de manière dose-dépendante (22 ; 23 ; 24). De la même manière le BPA à faibles doses sur des adipocytes humains, inhibe la sécrétion d'adiponectine et stimule la sécrétion d'interleukine 6 et de TNF α , deux adipokines inflammatoires, suggérant son implication possible dans l'obésité, le syndrome métabolique et l'insulinorésistance (25 ; 26 ; 27), avec un effet délétère à la fois sur la balance énergétique et l'homéostasie glucidique (foie, tissu adipeux, îlots pancréatiques) (27). Dans l'espèce humaine bien qu'il soit théoriquement rapidement éliminé par voie rénale après glucuroconjugaison hépatique, le BPA semble néanmoins s'accumuler dans le tissu graisseux (28) expliquant que son taux sanguin persiste même au cours du jeûne. Sur le plan épidémiologique une étude française récente a retrouvé une relation dose réponse non monotonique en U renversé entre le bisphénol urinaire chez la mère et le poids du nouveau-né (29) proche de ce qui a été décrit chez les rongeurs (15). Concernant les études épidémiologiques chez l'adulte cherchant à corrélérer le taux urinaire de BPA et l'obésité, une étude américaine portant sur 2700 adultes et une étude chinoise parue en février 2012 dans le JCEM et portant sur 3400 adultes d'âge moyen trouvent une corrélation positive entre l'obésité générale, l'obésité centrale, l'insulinorésistance et les taux urinaires de bisphenol A (30 ; 31). Mais le caractère transversal rétrospectif des études, le prélèvement unique de BPA urinaire signant surtout l'exposition récente, laissent planer un doute sur la liaison causale. Avec beaucoup d'honnêteté les auteurs s'interrogent sur le rôle de prise excessive de boissons sucrées en particulier chez l'obèse et le relargage de BPA par les cannettes de soda. Chez la femme, son taux sanguin est significativement plus élevé en cas de syndrome des ovaires polykystiques (SOPK), endocrinopathie gynécologique très fréquente associant obésité et insulinorésistance avec laquelle il est corrélé (32 ; 33). Aussi l'exposition au BPA doit-il être considéré aujourd'hui comme un facteur de risque d'exacerbation et d'accélération dans le développement de l'obésité et du syndrome métabolique (7 ; 27).

DIABETE

L'utilisation de modèles animaux, de cellules β pancréatiques murines ou humaines *in vitro* et plusieurs études épidémiologiques suggèrent que l'exposition au BPA pourrait également participer à l'augmentation de l'incidence du diabète de type 2. L'exposition au BPA de souris mâles adultes provoque un hyperinsulinisme et une insulinorésistance modérée (20). Il s'agit d'un effet direct sur le pancréas comme nous le verrons plus loin mais également d'une perturbation de la signalisation insulinique au niveau des tissus périphériques (muscle, foie et tissu adipeux). Le BPA induit chez le foie de rongeur un stress oxydatif en diminuant l'expression des enzymes antioxydants (34). Au niveau de l'adipocyte, Sakurai et al. (35) ont montré que le BPA augmente le transport du glucose basal et stimulé par l'insuline via une augmentation de l'expression du transporteur GLUT4. Au niveau du pancréas endocrine, le BPA est capable de supprimer *in vitro* sur des cellules alpha pancréatiques murines, les oscillations calciques induites par le glucose et contrôlant la sécrétion de glucagon (36). Sur les cellules bêta le BPA à des doses très faibles (0,1nM), augmente la fréquence des oscillations calciques induites par le glucose stimulant la sécrétion insulinique (37). Ces effets rapides ont été retrouvés *in vitro* sur des îlots pancréatiques murins. Ces effets membranaires miment l'action des estrogènes (20) et passent par des récepteurs membranaires non classiques des estrogènes comme nous le verrons plus loin. *In vivo*, le BPA de façon rapide (30 minutes) est capable, comme l'estra-

diol, d'abaisser la glycémie en provoquant une hypersécrétion d'insuline (20) et de stimuler le facteur de transcription AMP dépendant CREB, qui régule l'expression du gène de l'insuline et la survie des cellules bêta (38). Si l'on prolonge l'exposition au BPA chez le rat il apparaît au bout de 4 jours un hyperinsulinisme traduisant une insulino-résistance objectivée par les tests d'insulinosensibilité (20). Est-il possible d'extrapoler à l'espèce humaine ? Deux types d'arguments récents vont dans ce sens : la répétition des effets rapides *in vitro* du BPA constatés de la même façon sur des îlots bêta pancréatiques humains (39) et plusieurs études épidémiologiques transversales rétrospectives. Ces études transversales rétrospectives proviennent toutes des enquêtes américaines de la National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). La première portant sur des adultes représentatifs de la population générale d'un âge compris entre 18 et 74 ans inclus durant la période 2003-2004, retrouve après normalisation pour l'âge, le sexe, l'ethnie, le niveau d'éducation le tabagisme, l'IMC, le tour de taille et le taux de créatinine urinaire, une corrélation entre la concentration urinaire de BPA et l'existence d'un diabète auto-déclaré (40). Une corrélation positive a été également retrouvée avec les affections cardio-vasculaires. Le fait que les taux les plus élevés de BPA soient retrouvés pour les valeurs hautes d'IMC et qu'ils ne représentent théoriquement que l'exposition très récente en particulier suite aux prises de soda (canettes, bouteilles plastiques) très prisées chez les obèses conduit ici aussi les auteurs à s'interroger sur le lien causal par rapport au rôle d'une exposition prolongée à faibles doses tout en reconnaissant que cette liaison pourrait indirectement constituer un indicateur d'exposition à de multiples perturbateurs endocriniens (40). Plusieurs enquêtes similaires menées de 2005 à 2008 retrouvent des résultats discordants (41 ; 42). Néanmoins, reprenant des patients des 3 enquêtes pour lesquels des résultats biologiques étaient disponibles, Shankar et al (43) retrouvent une corrélation positive après correction de tous les facteurs confondants suscités avec le diabète défini, soit par une glycémie à jeun > 1,26 g/l ou non à jeun > 2,00 g/l ou par un taux d'HbA1c > 6,5 %. Ce facteur de risque indépendant des facteurs traditionnels de risque de diabète de type 2 doit être confirmé par des études prospectives longitudinales.

REPRODUCTION

SYNDROME DES OVAIRES MICROPOLYKYSTIQUES (SOPK)

Deux types d'arguments suggèrent la participation de l'exposition au BPA dans la physiopathologie du SOPK dont il est aujourd'hui reconnu qu'il implique à la fois des facteurs génétiques de susceptibilité et des facteurs d'environnement. L'exposition néonatale au BPA chez le rat induit chez l'adulte un tableau proche de celui du SOPK (44). *In vitro* le BPA stimule la sécrétion de testostérone par les cellules de la thèque d'ovaires de rat (45). Chez la femme avec SOPK le taux BPA sanguin est plus élevé que chez des femmes contrôles appariées normo-ovulantes et sans hyperandrogénie, qu'il existe une obésité ou non (33) et est corrélé aux androgènes.

CRYPTORCHIDIE

La cryptorchidie ou non descente testiculaire est la malformation congénitale masculine la plus fréquente et son incidence (>2 % à la naissance) est vraisemblablement en augmentation. Elle est le plus souvent idiopathique mais des facteurs à la fois génétiques et environnementaux ont été suggérés (46 ; 47). La cryptorchidie représente le facteur de

risque principal vis-à-vis de la survenue du cancer germlinal testiculaire. Plusieurs équipes dont la nôtre ont retrouvé dans le sang du cordon ou dans le lait maternel des taux plus élevés de certains perturbateurs endocriniens environnementaux (47 ; 48). Néanmoins, concernant le BPA nous avons montré dans une étude récente que bien que présent au sang du cordon chez 100 % des garçons (Figure 2), il n'était vraisemblablement pas en cause dans la non descente testiculaire (49).

HYPOFERTILITE MASCULINE

Étant donnée la mise en évidence de propriétés de perturbateur endocrinien de type estrogénique et anti-androgénique du BPA in vitro et in vivo chez l'animal (50), les effets sur la fonction testiculaire ont été particulièrement étudiés. Chez les rongeurs, il a été mis en évidence un effet direct du BPA sur la cellule de Leydig avec réduction chez le rat de la sécrétion de testostérone (51). Il induit sur la cellule de Sertoli des modifications des protéines jonctionnelles (52) et stimule la prolifération des cellules séminomateuses humaines in vitro (53 ; 54). L'exposition in utero chez le rat entraîne une altération de la spermatogenèse à l'âge adulte (55). Très peu d'études épidémiologiques ont pour l'instant vérifié l'existence d'une corrélation entre le BPA urinaire et la qualité du spermogramme comme celle retrouvée récemment par Li et al. (56) pour le nombre, la mobilité et la vitalité des spermatozoïdes.

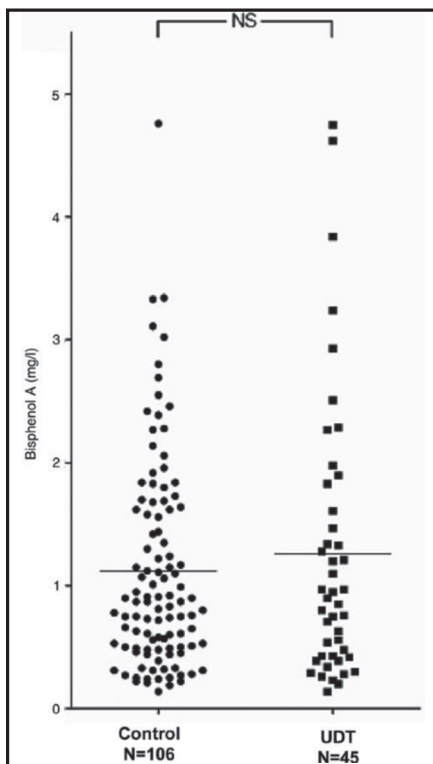


Figure 2. : **BPA au sang du cordon**

Comparaison des taux de BPA au sang du cordon chez des garçons nés après 35 semaines d'aménorrhée présentant ou non une non descente testiculaire (UDT). D'après Fénichel et al. (49).

CANCER DU SEIN

Le cancer du sein est le plus fréquent des cancers féminins : 1 million de nouveaux cas par an dans le monde dont 40 000 en France soit 32 % des cancers féminins (57). Il est responsable de 2 % des décès féminins soit la première cause de mortalité féminine par cancer. Son incidence déjà importante est en augmentation régulière avec un doublement en 20 ans : 2 à 5 % par an selon les régions du monde avec une grande disparité avec effectivement des zones à forte incidence comme l'Amérique du Nord, l'Europe, l'Australie et des zones de faible incidence comme l'Asie ou l'Afrique (58) suggérant déjà des facteurs d'environnement nutritionnels ou toxiques. Cette hypothèse est renforcée par le fait que moins de 10 % des cancers du sein sont familiaux et liés à des mutations germinales transmissibles et par la constatation d'une augmentation de l'incidence dès la deuxième génération chez les migrantes d'origine asiatique s'installant aux USA (58 ; 58 bis). Il est par conséquent logique de suggérer une implication des perturbateurs endocriniens estrogénomimétiques. D'autant que la notion de programmation foetale ou périnatale à distance, a été bien mise en évidence pour certains d'entre eux dont le bisphénol A, concernant la carcinogenèse mammaire, chez le rat et la souris, exposés à de très faibles doses, durant cette période critique et qui ont développé à l'âge adulte des lésions pré-cancéreuses. L'exposition foetale au BPA chez la souris entraîne dans la période péri-pubertaire une altération du développement de l'histo-architecture des glandes mammaires avec une sensibilité exacerbée aux estrogènes, une augmentation de la surface et du nombre des bourgeons terminaux rapportés à l'ensemble des structures canalaire, une diminution de leur activité apoptotique, une augmentation du nombre de cellules épithéliales exprimant le récepteur à la progestérone, une augmentation des ramifications canalaire latérales et donc de leur densité (59 ; 60). Ces anomalies évoquent des troubles du développement et de la morphogenèse prenant leur origine dès la période foetale, ce qui a bien été identifié lors de l'exposition au bisphénol A *in utero* chez la souris (61). Enfin chez le rat Wistar, l'exposition prénatale au bisphénol A, entraîne à l'âge adulte des modifications des compartiments épithélial et stromal, une augmentation du rapport prolifération/apoptose (62) et induit le développement de lésions néoplasiques après administration d'une faible dose d'un carcinogène, sans effet chez l'animal contrôle non exposé auparavant au BPA. Tous ces éléments évoquent une augmentation de la susceptibilité à développer un cancer mammaire. Le BPA est également capable de stimuler *in vitro* la prolifération des cellules humaines de cancer du sein (63). De façon surprenante, il a été montré également, très récemment, que le BPA à des doses très faibles, nanomolaires, équivalentes à celles retrouvées dans le sérum de la majorité de la population, induisait *in vitro* une chimiorésistance sur plusieurs lignées de cellules de cancer du sein aussi bien ER α positive que ER α négative, tout en augmentant l'expression de plusieurs protéines anti-apoptotiques (64). Ce qui manque à présent ce sont des études épidémiologiques corrélant de façon pertinente exposition au bisphénol A et risque de cancer du sein comme cela a été réalisé pour d'autres perturbateurs endocriniens environnementaux (PEE) (58bis) bien que l'on ne puisse méconnaître les problèmes méthodologiques inhérents à ce type d'approche (64 bis).

LE CANCER DE LA PROSTATE

Le cancer de la prostate est le plus fréquent des cancers de l'homme de plus de 50 ans et la deuxième cause de mortalité masculine par cancer. Son incidence continue à croître

indépendamment de l'âge (65). Malgré un meilleur dépistage et de meilleurs traitements, sa mortalité reste élevée lorsque la phase d'androgéno-dépendance est dépassée. Parmi les facteurs de risque seuls des facteurs génétiques (familial et ethnique) et nutritionnels (régime riche en graisses) sont bien identifiés mais une suspicion existe à présent vis-à-vis des perturbateurs endocriniens environnementaux. La prostate est classiquement androgéno-dépendante et se développe sous l'effet des androgènes à partir de la puberté. L'androgéno-dépendance du cancer de la prostate en tout cas dans sa phase initiale est à la base du traitement antihormonal. Mais le rôle additif des estrogènes dans le développement de la prostate normale et cancéreuse est de plus en plus argumenté (66). La prostate exprime l'aromatase et les récepteurs des estrogènes ER α et ER β (66) dont la localisation et le rôle fonctionnel diffèrent. Les estrogènes maternels au troisième trimestre de la grossesse contribuent au développement de la prostate chez l'homme. Les fils des mères traités pendant leur grossesse par du distilbène présentent à la naissance une hyperplasie de la prostate (67). Pour illustrer le rôle de l'exposition aux PEEs, un article publié dans une grande revue de cancérologie rapportait récemment l'implication vraisemblable de la chlordecone dans l'augmentation du cancer de la prostate aux Antilles françaises (68). La chlordecone ou kepone est un pesticide organochloré estrogénomimétique qui a été largement utilisée dans les Antilles françaises de 1973 à 1993 dans les bananeraies. Sa dégradation étant très lente elle persiste dans les nappes phréatiques pendant plusieurs décennies. Chez les rongeurs elle est considérée comme un carcinogène et induit le cancer du foie. Chez l'homme, cette étude d'exposition cas/contrôle menée dans une zone géographique limitée avec une exposition contrôlée, a permis de vérifier le risque lié à l'exposition à la chlordecone, indépendamment de l'origine ethnique et d'autres biais statistiques ou facteurs confondants. Ainsi le risque est d'autant plus élevé que le taux sanguin est élevé, corrélation d'autant plus forte que l'homme a plus de 60 ans, une histoire familiale de cancer de la prostate ou un séjour prolongé en métropole (rôle de l'alimentation riche en graisses) et un polymorphisme génétique concernant la chlordecone réductase une enzyme impliquée dans sa dégradation, évoquant une susceptibilité individuelle. En cas de cancer, l'indice d'agressivité tumorale est proportionnel au taux sanguin de chlordecone (68). Ces données épidémiologiques sont soutenues par l'expérimentation animale. En effet l'exposition in utero et périnatale aux estrogènes dont le distilbène et le BPA, entraîne chez les rongeurs à l'âge adulte des hyperplasies de la prostate et des lésions précancéreuses (69). Cette exposition périnatale à l'estradiol ou au BPA, favorise à l'âge adulte la susceptibilité à développer un cancer spontané ou après induction estrogénique secondaire (69). Lors de l'échappement thérapeutique aux anti-androgènes dans le cancer de la prostate devenant androgéno-indépendant, différents mécanismes physiopathologiques ont été évoqués dont la survenue de mutations somatiques du récepteur aux androgènes (70). Il a été montré dans certains de ces cas, sur les cellules cancéreuses in vitro, qu'elles devenaient sensibles aux bisphénol A via ce récepteur muté favorisant ainsi la prolifération tumorale (71).

LE CANCER DU TESTICULE

Le cancer germinale testiculaire ne représente que 2 % de tous les cancers mais c'est le cancer le plus fréquent de l'homme jeune. Il est en constante augmentation à travers le monde, augmentation estimée à 2 à 3 % par an (72). Bien que cette augmentation reste inexplicée ses liens avec la cryptorchidie ou non descente testiculaire et la stérilité masculine dans le cadre du syndrome de dysgénésie testiculaire (46) et les résultats de

plusieurs études épidémiologiques suggèrent un lien avec l'exposition in utero aux PEEs favorisant la transformation maligne des cellules germinales souches fœtales les gonocytes dont ces cancers sont issus (73). Ainsi il a été retrouvé aux USA 6 fois plus de cancer du testicule chez les ouvriers agricoles que dans la population contrôle (74 ; 75) en particulier ceux exposés à un pesticide organochloré l'atrazine (75), encore très utilisé dans nos régions agricoles de l'Ouest. Hardell et al (76) rapportent en Suède une étude sur différents PEEs mesurés chez les hommes atteints de cancer du testicule et chez leur mère. Une corrélation forte est retrouvée non pas avec les dosages sanguins des patients eux-mêmes mais avec les dosages maternels (76) avec un risque multiplié par 4 avec la somme des PCBs (bisphenyls polychlorés), l'HCB (hexachlorobenzène), le nonachlordane élevés et non le pp,DDE un dérivé stable du DDT anti-androgénique, suggérant le rôle de l'exposition fœtale in utero aux xénoestrogènes. Mais le cancer du testicule est-il comme le cancer du sein ou de la prostate estrogéno-dépendant ? Il s'agit d'une notion moins classique que pour le cancer du sein. En fait, le séminome, cancer du testicule le plus fréquent, exprime bien l'aromatase, l'enzyme permettant la transformation de la testostérone en estradiol et ses cellules expriment également le récepteur des estrogènes ER β mais non ER α (77). Malheureusement contrairement au cancer de la prostate et du sein il n'est pas possible d'induire chez les rongeurs de cancer germinale testiculaire par exposition in utero ou périnatale à des xénoestrogènes, et il n'existe pas de modèle expérimental connu chez ces animaux ressemblant au séminome. Force est donc d'utiliser des lignées de cellules cancéreuses humaines. C'est ce que nous avons fait pour démontrer que les estrogènes étaient capables de réguler la prolifération des cellules séminomateuses humaines in vitro (77 ; 78). L'estradiol 17 β , l'estrogène naturel, exerce sur les cellules séminomateuses un effet suppresseur sur la prolifération qui est médié par le récepteur nucléaire classique ER β . L'estradiol couplé à la sérum albumine bovine ne traverse pas la membrane, par contre, il stimule la prolifération des cellules cancéreuses germinales via un récepteur membranaire couplé aux protéines G : GPR30/GPER (78 ; 54). Il existe donc au moins deux mécanismes différents par lesquels des xénoestrogènes peuvent réguler les cellules séminomateuses. Nous avons ainsi testé sur ce modèle différents PEEs (DES, Atrazine, bisphénol A) et constaté que leur mode d'action prédominant (et donc la résultante en terme de contrôle de la prolifération des cellules malignes testiculaires) pouvait être différent. Ainsi le bisphénol A est capable à doses très faibles (Figure 3) correspondant aux doses retrouvées dans le sang du cordon des nouveaux-nés garçons (49) de l'ordre de la nanoMole, de stimuler la prolifération des cellules séminomateuses humaines in vitro, via le récepteur membranaire couplé aux protéines G, GPER ou appelé aussi GPR30 différent de ER (53). La courbe dose/réponse n'est pas linéaire mais en U renversé témoignant d'une double action du bisphénol A selon la dose et via les deux récepteurs totalement distincts évoqués précédemment (53 ; 79). A des doses faibles retrouvées au niveau environnemental, le bisphénol A exerce une action promotrice via le récepteur membranaire GPRE (53 ; 79). A fortes doses il agit sur le récepteur classique ER β et exerce alors de façon prédominante une action opposée suppressive (77). Les doses faibles promotrices sont celles capables chez la souris par exposition in utero de programmer la capacité de développer à l'âge adulte des lésions cancéreuses mammaires (80) ou prostatiques (81) comme évoquées dans le paragraphe suivant. Le séminome humain surexprime GPR30 par rapport au testicule sain (79).

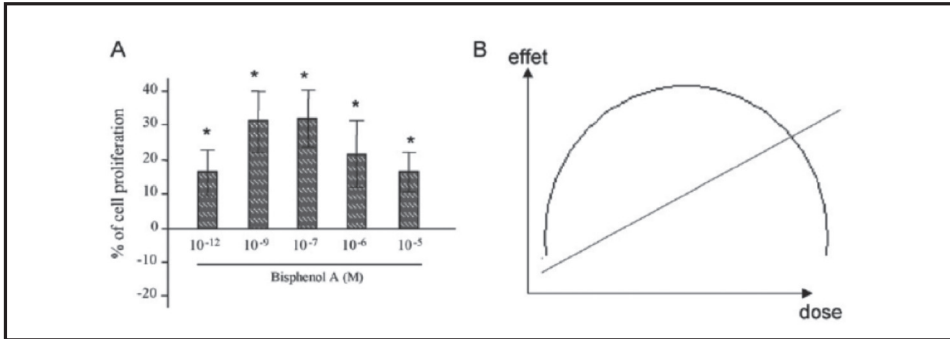


Figure 3. : **le BPA régule la prolifération des cellules séminomateuses humaines.**

Le BPA à très faibles doses, de l'ordre du picomolaire stimule la prolifération in vitro des cellules séminomateuses humaines. A noter que la courbe dose-réponse n'est pas linéaire mais en U renversé, lié à l'action conjointe du bisphénol A sur deux récepteurs distincts : le récepteur membranaire GPR-30 via lequel il exerce avec une très forte affinité, une action proliférative et le récepteur ER β via lequel il exerce, avec une plus faible activité, et donc à plus forte concentration une action suppressive. D'après Bouskine et al. (53).

METABOLISME, STOCKAGE, ELIMINATION, DOSAGE.

Actif sous forme libre, le BPA est en principe rapidement glucurono- ou sulfo- conjugué par le foie et éliminé par voie intestinale comme le démontre l'étude pharmacocinétique d'une dose orale unique (82). Cette pharmacocinétique qui est différente dans l'espèce humaine comparée à celle du rongeur a longtemps été utilisée pour dénier tout effet chronique (83 ; 84). Néanmoins, de nombreuses études ont retrouvé des formes libres à des taux non négligeables au niveau du sang du cordon, dans le liquide amniotique, au niveau du plasma ainsi que dans le sérum et les urines chez les sujets adultes (11). Sa persistance dans le sang au cours du jeûne plaide en faveur de son relargage à partir du tissu adipeux où il serait stocké malgré une lipophilie relative (28) et l'absorption permanente par voie alimentaire entretient probablement également sa présence dans la circulation sanguine. En outre, des sulfatases et/ou des glucuronidases sont présentes dans différents organes à l'âge adulte et également au niveau du placenta, ce qui expliquerait la mise en évidence de la forme circulante libre de bisphénol A, seule forme active susceptible d'entraîner des effets délétères. Le fœtus et le nouveau-né semblent particulièrement exposés (85 ; 86) possiblement par immaturité enzymatique. Le dosage de référence dans le sang (forme libre) et dans les urines (forme conjuguée) se fait par chromatographie et spectrométrie de masse. Un radioimmunoassay a été mis au point et validé par H. Dechaud à Lyon (87 ; 48) et nous a permis de retrouver le BPA dans le sang du cordon et chez les parturientes, entre 1 et 10 ng/ml (49). Mais des précautions particulières pour éviter la contamination des plastiques doivent être prises dans la chaîne du prélèvement, du transport, du stockage et de la manipulation au laboratoire des échantillons biologiques et la simple perfusion avant ou pendant le prélèvement augmente considérablement les taux en raison du relargage à partir des tubulures ou des flacons de perfusion.

QUELS SONT LES RECEPTEURS IMPLIQUES PAR LE BPA ?

Une question importante est le fait que le bisphénol A est un estrogène faible avec une affinité 10.000 fois moins importante que l'estradiol 17 α pour le récepteur nucléaire

classique ER α et 1.000 fois plus faible en ce qui concerne ER β (88). Ce qui pour certains ne permettrait pas au bisphénol A d'exercer une véritable action aux très faibles doses nanomolaires mesurées dans l'espèce humaine, et qui ne permettrait pas de considérer le BPA comme un estrogénomimétique (89). Différentes explications ont été proposées devant ce paradoxe apparent à savoir l'intervention de récepteurs non classiques membranaires des estrogènes pour l'action du bisphénol A, en particulier un récepteur couplé aux protéines G, GPR30. Ce récepteur couplé aux protéines G est présent sur les cellules du cancer du sein (90), sur les îlots bêta, les adipocytes avec une forte affinité pour le BPA et capables d'activer les voies de signalisation impliquées dans le contrôle de la prolifération, la survie et l'apoptose comme nous l'avons montré dans l'équipe niçoise pour les cellules germinales malignes humaines *in vitro* (53 ; 54). Un autre récepteur ERR γ (estrogen related receptor gamma) possède également une très haute affinité pour le bisphénol A (91). Il est exprimé par les adipocytes (92). Ces deux récepteurs GPR30 et ERR γ sont exprimés par les cellules de cancer du sein ER α et ER β négatifs qui répondent pourtant au bisphénol A (90). Le BPA possède également une action antagoniste vis-à-vis du récepteur des androgènes (93). Il interagit également en tant qu'antagoniste de PPAR γ (94) capable d'inhiber la prolifération des adipocytes et comme un antagoniste des hormones thyroïdiennes (95).

QUELS MECANISMES MOLECULAIRES DE PROGRAMMATION A DISTANCE ?

La notion de programmation foetale ou périnatale à distance, a été bien mise en évidence pour le bisphénol A, concernant la carcinogenèse mammaire chez le rat et la souris qui ont été exposés à de très faibles doses, durant cette période critique et qui ont développé à l'âge adulte des lésions pré-cancéreuses. Concernant les mécanismes moléculaires d'empreinte à distance Bromer et al. 2009 (96) ont précisé récemment pour le DES ces mécanismes pour l'induction du cancer de l'utérus chez la souris en caractérisant le devenir du gène HOXA 10 un facteur de transcription impliqué dans le développement utérin, dont le promoteur est hypométhylé lors de l'exposition *in utero* entraînant une mémoire épigénétique altérée se traduisant à l'âge adulte par une surexpression du gène et une susceptibilité à développer un cancer de l'utérus. D'autres modifications épigénétiques induites par l'exposition au distillbène ont été rapporté : pour l'oncogène *c-fos* impliqué dans le contrôle de la prolifération cellulaire et qui devient hypométhylé conduisant à sa surexpression (97) dans l'utérus de souris adulte. Des anomalies épigénétiques induites du gène HOXA10, dans le même modèle d'utérus de souris ont été rapportées avec le bisphénol A (98) et le méthoxychlore, un pesticide organochloré (99). Le bisphénol A induit dans la prostate après exposition néonatale également des modifications épigénétiques comme décrites plus haut. La méthylation de l'ADN est une marque épigénétique impliquée dans l'initiation et la promotion des cancers (100). Ho en 2006 et Prins en 2008 (81 ; 69) ont étudié chez le rat les modifications épigénétiques induites dans la prostate adulte après exposition foetale ou périnatale aux estrogènes et au bisphénol A. Ils ont retrouvé ainsi 50 séquences modifiées. Parmi celles-ci une séquence codant pour une enzyme particulièrement intéressante qui est impliquée dans le contrôle de la prolifération, la phosphodiesterase 4D4, enzyme dégradant l'AMP cyclique. Ce gène est d'autant plus hypométhylé que la protéine est surexprimée. Cette hypométhylation s'observe très tôt avant l'âge adulte, avant toute lésion histologique et peut donc servir de biomarqueur précoce (81). De façon intéressante, ce gène est retrouvé également hypométhylé dans le cancer de la prostate humain. Il est possible que ces modifications soient induites par

l'action des PEEs via les DNA méthyltransférases (DNMTs) les enzymes permettant la méthylation des îlots CpG de l'ADN (100). Il est vraisemblable qu'elles impliquent à la fois une action via les récepteurs classiques des estrogènes ERs (101) et/ou d'autres récepteurs (102 ; 103 ; 37). La figure 4 résume ainsi le mécanisme supposé d'action des PEEs lors de l'exposition fœtale in utero imprimant des modifications épigénétiques susceptibles à l'âge adulte de contribuer, avec d'autres facteurs favorisants, à la transformation maligne.

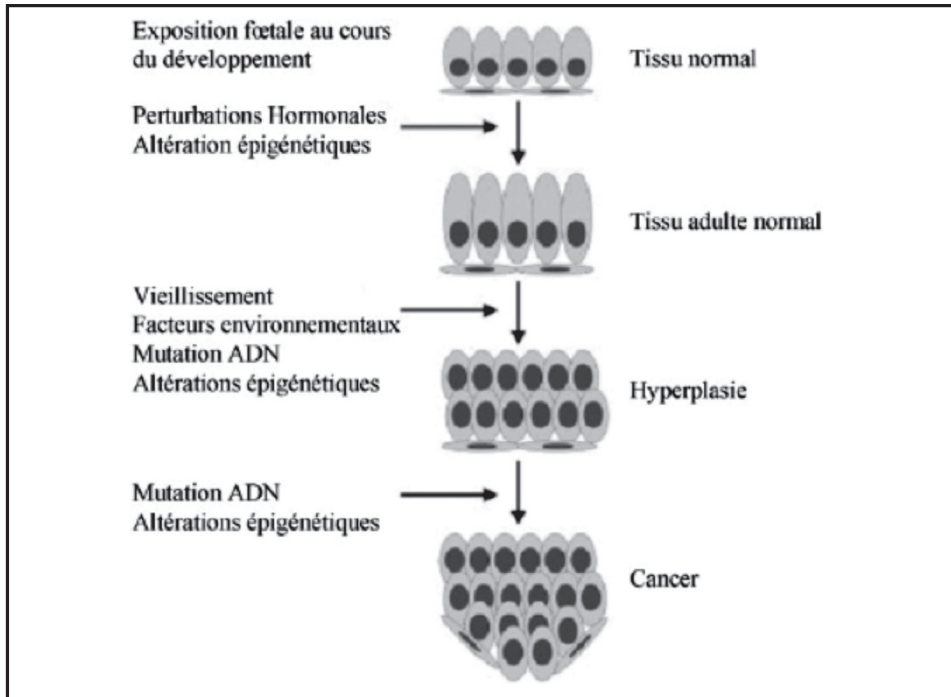


Figure 4. : **Exposition fœtale aux perturbateurs endocriniens environnementaux, modifications épigénétiques et cancers hormono-dépendants :**

Les perturbations hormonales au cours du développement comme par exemple l'exposition à des perturbateurs endocriniens mimant les hormones, peuvent entraîner des altérations épigénétiques qui associées à d'autres altérations (mutations somatiques) sont susceptibles de favoriser la transformation maligne. D'après Chiam K. et al (101)

CONCLUSION

Au total, bien que sa participation en pathologie humaine ne soit pas formellement démontrée, il existe des présomptions sérieuses sur le rôle pathogène éventuel du bisphénol A, présent de façon ubiquitaire dans l'environnement quotidien. Il pourrait à faibles doses, mais environnementalement significatives, dans des périodes critiques d'exposition (en particulier fœtale et/ou périnatale) favoriser, chez des sujets présentant une susceptibilité génétique, le développement de maladies métaboliques, de troubles de la reproduction ou de cancers hormono-dépendants (prostate, colon, testicule). Des études épidémiologiques longitudinales prospectives sont nécessaires pour confirmer une telle responsabilité ainsi que la caractérisation de biomarqueurs capables d'évaluer la durée et

l'intensité de l'exposition et de reconnaître les empreintes moléculaires induites par celle-ci (hyperméthylation de gènes, microARNs). Le débat actuel est par conséquent légitime de savoir s'il faut s'appuyer sur ces éléments de présomption et sur le principe de précaution afin de modifier la réglementation qu'elle soit française ou européenne et procéder déjà à certaines interdictions comme par exemple, les biberons en plastique plutôt que de considérer qu'il est urgent d'attendre des études à venir pharmacocinétiques, expérimentales et épidémiologiques.

**Service d'Endocrinologie, Diabétologie et Reproduction
INSERM U1065 / C3M
Hôpital de l'Archet 2, CHU de NICE
151, Rte St Antoine de Ginestière- 06202 Nice Cedex 3**

Adresse pour la correspondance : Patrick Fénichel, Service d'Endocrinologie, Diabétologie et Reproduction, INSERM U1065 / C3M, Hôpital de l'Archet 2, CHU de NICE, 151, Rte St Antoine de Ginestière- 06202 Nice Cedex 3

Tél. : 33 (0)4 92 03 55 19 - **Fax :** 33 (0)4 92 03 54 25 - **E-mail :** fenichel.p@chu-nice.fr

BISPHENOL A: AN ENDOCRINE AND METABOLIC DISRUPTOR

by **Patrick FENICHEL, Nicolas CHEVALIER** and
Françoise BRUCKER-DAVIS (Nice, France)

*Service d'Endocrinologie, Diabétologie et Reproduction, INSERM U1065 / C3M, Hôpital de l'Archet 2,
CHU de NICE, 151, Rte St Antoine de Ginestière- 06202 Nice Cedex 3*

ABSTRACT

Bisphenol A, initially designed, like diethylstilbestrol, as a synthetic estrogen has been rapidly and widely used for its cross-linking properties in the manufacture of polycarbonate plastics and epoxy resins. Because of incomplete polymerization and degradation of the polymers by exposure to higher than usual temperatures, BPA leaches out from food and beverage containers, as well as from dental sealants. In humans, free active unconjugated BPA is metabolized by rapid glucuro- or sulfo-conjugation and eliminated via renal clearance. However exposure to environmental nanomolar concentrations of BPA is ubiquitous and continuous via different routes: oral, air, skin. In rodents, foetal and perinatal exposure to such environmentally relevant doses of BPA has been shown to affect the brain, liver, gut, adipose tissue, endocrine pancreas, mammary gland and reproductive tract and function. Similar concentrations are also able in vitro to impact human malignant breast, prostate, male germ cell or adipocyte cell lines with a promoting effect, or by interfering with chemotherapy drugs or to stimulate pancreatic β cell insulin secretion. High levels of free active BPA have recently been correlated with obesity, diabetes, cardiovascular diseases, polycystic ovarian disease or low sperm count. However, more prospective longitudinal epidemiological studies are needed as well as characterization of selective biomarkers to verify long term exposure and selective imprinting (DNA hypermethylation or miRNAs) before the real impact of BPA on human health can be clearly assessed.

Key-words : bisphenol A – xenoestrogens – endocrine disruptors – fetal exposure – membraneous estrogen receptors – epigenetics – diabetes – obesity –hormone dependent cancers.

BIBLIOGRAPHIE

- 1. Colborn T., F.S. vom Saal, A.M. Soto.** : Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ Health Perspect.* 1993; **101** : 378-384. - **2. Colborn T., C. Clement** : Chemically induced alterations in sexual and functional development: the human/wildlife connection ; 1992 : 1-8. **In: Wingspread consensus statement. editors Princeton, NJ: Princeton Scientific Publishing.** - **3. Toppari J., J.C. Larsen, P. Christiansen, et al.** : Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environ Health Perspect.* 1996; **104** Suppl 4 : 741-803. - **4. Herbst A.L.** : Clear cell adenocarcinoma and the current status of DES-exposed females. *Cancer.* **198**; 48 : 484-488. - **5. Palmer J.R., L.A. Wise, E.E. Hatch, et al.** : Prenatal diethylstilbestrol exposure and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006, **15**, 1509-1514. - **6. Barker D.J.P.** : The developmental origins of adult disease. *Eur J Endocrinol.* 2003, **18**, 733-736. - **7. ANSES. Rapport d'expertise collective.** Effets sanitaires du Bisphénol-A. 2011. - **8. Dodds E.C., W. Lawson** : Synthetic estrogenic agents without the phenanthrene nucleus. *Nature.* 1936; **137**, 996. - **9. Krishnan A.V., P. Stathis, S.F. Permuth, et al.** : Bisphenol-A: an estrogenic substance is released from polycarbonate flasks during autoclaving. *Endocrinology.* 1993 ; **132** : 2279-2286. - **10. Calafat A.M., Z. Kuklennyik, J.A. Reidy, et al.** : Urinary Concentrations of bisphenol A and 4-nonylphenol in a human reference population. *Environ Health Perspect.* 2005; **113**, 391-395. - **11. Vandenberg L.N., R. Hauser, M. Marcus, et al.** : Human exposure to bisphenol A (BPA) *Reprod Toxicol.* 2007a ; **24**, 139-177. - **12. Vom Saal F.S., C. Hughes** : An extensive new literature concerning low-dose effects of bisphenol A shows the need for a new risk assessment. *Environ Health Perspect.* 2005; **113** : 926-933. - **13. Lang I.A., T.S. Galloway, A. Scarlett, et al.** : Association of urinary bisphenol A concentration with medical disorders and laboratory abnormalities in adults. *JAMA.* 2008; **300** :1303-1310. - **14. Vandenberg L.N., M.V. Maffini, C. Sonnenschein, et al.** : Bisphenol-A and the great divide: a review of controversies in the field of endocrine disruption. *Endocr Rev.* 2009; **30** : 75-95. - **15. Rubin B.S., M.K. Murray, D.A. Damassa et al.** : Perinatal exposure to low doses of bisphenol A affects body weight, patterns of estrous cyclicity, and plasma LH levels. *Environ Health Perspect.* 2001; **109** : 675-680. - **16. Somm E., V.M. Schwitzgebel, A. Toulotte, et al.** : Perinatal exposure to bisphenol A alters early adipogenesis in the rat. *Environ Health Perspect.* 2009; **117** : 1549-1555. - **17. Ryan K.K., A.M. Haller, J.E. Sorrell, et al.** : Perinatal exposure to bisphenol-a and the development of metabolic syndrome in CD-1 mice. *Endocrinology.* 2010; **151** : 2603-2612. - **18. Howdeshell K.L., A.K. Hotchkiss, K.A. Thayer, et al.** : Exposure to bisphenol A advances puberty. *Nature.* 1999; **401** : 763-764. - **19. Newbold R.R., E. Padilla-Banks, R.J. Snyder, et al.** : Perinatal exposure to environmental estrogens and the development of obesity. *Mol Nutr Food Res.* 2007; **51** : 912-7. - **20. Alonso-Magdalena P., S. Morimoto, C. Ripoll, et al.** : The estrogenic effect of bisphenol A disrupts pancreatic beta-cell function in vivo and induces insulin resistance. *Environ Health Perspect.* 2006; **114** : 106-112. - **21. Newbold R.R., E. Padilla-Banks, R.J. Snyder, et al.** : Developmental exposure to endocrine disruptors and the obesity epidemic. *Reprod Toxicol.* 2007; **23** : 290-296. - **22. Masuno H., T. Kidani, K. Sekiya, et al.** : Bisphenol A in combination with insulin can accelerate the conversion of 3T3-L1 fibroblasts to adipocytes. *J Lipid Res.* 2002; **43** : 676-684. - **23. Wada K., H. Sakamoto, K. Nishikawa, et al.** : Life style-related diseases of the digestive system: endocrine disruptors stimulate lipid accumulation in target cells related to metabolic syndrome. *J Pharmacol Sci.* 2007; **105** : 133-7. - **24. Sargis R.M., D.N. Johnson, R.A. Choudhury, et al.** : Environmental endocrine disruptors promote adipogenesis in the 3T3-L1 cell line through glucocorticoid receptor activation. *Obesity (Silver Spring).* 2010; **18** : 1283-1288. - **25. Hugo E.R., T.D. Brandebourg, J.G. Woo, et al.** : Bisphenol A at environmentally relevant doses inhibits adiponectin release from human adipose tissue explants and adipocytes. *Environ Health Perspect.* 2008; **116** : 1642-1647. - **26. Ben-Jonathan N., E.R. Hugo, T.D. Brandebourg** : Effects of bisphenol A on adipokine release from human adipose tissue: Implications for the metabolic syndrome. *Mol Cell Endocrinol.* 2009; **304** : 49-54. - **27. Alonso-Magdalena P., I. Quesada, A. Nadal** : Endocrine disruptors in the etiology of type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol.* 2011; **7** : 346-353. - **28. Fernandez M.F., J.P. Arrebola, J. Taoufik, et al.** : Bisphenol-A and chlorinated derivatives in adipose tissue of women. *Reprod Toxicol.* 2007; **24** : 259-264. - **29. Philippat C., M. Mortamais, C. Chevrier, et al.** : Exposure to phthalates and phenols during pregnancy and offspring size at birth. *Environ Health Perspect.* 2012; **120** : 464-470. - **30. Carwile J.L., K.B. Michels** : Urinary bisphenol A and obesity: NHANES 2003-2006. *Environ Res.* 2011; **111** : 825-830. - **31. Wang T., M. Li, B. Chen, et al.** : Urinary bisphenol A (BPA) concentration associates with obesity and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012; **97** : E223-E227. - **32. Takeuchi T., O. Tsutsumi, Y. Ikezuki et al.** : Positive relationship between androgen and the endocrine disruptor, bisphenol A, in normal women and women with ovarian dysfunction. *Endocr J.* 2004; **51** : 165-169. - **33. Kandaraki E., A. Chatzigeorgiou, S. Livadas, et al.** : Endocrine disruptors and polycystic ovary syndrome (PCOS): elevated serum levels of bisphenol A in women with PCOS. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; **96** : E480-484. - **34. Bindhumol V., K.C. Chitra, P.P. Mathur** : Bisphenol A induces reactive oxygen species generation in the liver of male rats. *Toxicology.* 2003; **188** : 117-124. - **35. Sakurai K., M. Kawazuma, T. Adachi, et al.** : Bisphenol A affects glucose transport in mouse 3T3-F442A adipocytes. *Br J Pharmacol.* 2004; **141** : 209-14. - **36. Alonso-Magdalena P., O. Laribi, A.B. Roperro, et al.** : Low doses of bisphenol A and diethylstilbestrol impair Ca²⁺

signals in pancreatic alpha-cells through a nonclassical membrane estrogen receptor within intact islets of Langerhans. *Environ Health Perspect.* 2005; **113** : 969-977. - **37. Nadal A., A.B. Roperro, O. Laribi, et al.** : Nongenomic actions of estrogens and xenoestrogens by binding at a plasma membrane receptor unrelated to estrogen receptor alpha and estrogen receptor beta. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000; **97** : 11603-11608. - **38. Quesada I., E. Fuentes, M.C. Viso-León, et al.** : Low doses of the endocrine disruptor bisphenol-A and the native hormone 17beta-estradiol rapidly activate transcription factor CREB. *FASEB J.* 2002; **16** : 1671-1673. - **39. Soriano S., P. Alonso-Magdalena, M. García-Arévalo, et al.** : Rapid insulinotropic action of low doses of bisphenol-A on mouse and human islets of Langerhans: role of estrogen receptor β . *PLoS One.* 2012; **7** : e31109. - **40. Lang I.A., T.S. Galloway, A. Scarlett, et al.** : Association of urinary bisphenol A concentration with medical disorders and laboratory abnormalities in adults. *JAMA.* 2008; **300** : 1303-1310. - **41. Melzer D., N.E. Rice, C. Lewis, et al.** : Association of urinary bisphenol a concentration with heart disease: evidence from NHANES 2003/06. *PLoS One.* 2010; **5** : e8673. - **42. Silver M.K., M.S. O'Neill, M.R. Sowers, et al.** : Urinary bisphenol A and type-2 diabetes in U.S. adults: data from NHANES 2003-2008. *PLoS One.* 2011; **6** : e26868. - **43. Shankar A., S. Teppala** : Relationship between body mass index and high cystatin levels among US adults. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2011; **13** : 925-930. - **44. Fernández M., N. Bourguignon, V. Lux-Lantos, et al.** : Neonatal exposure to bisphenol a and reproductive and endocrine alterations resembling the polycystic ovarian syndrome in adult rats. *Environ Health Perspect.* 2010; **118** : 1217-1222. - **45. Zhou W., J. Liu, L. Liao, et al.** : Effect of bisphenol A on steroid hormone production in rat ovarian theca-interstitial and granulosa cells. *Mol Cell Endocrinol.* 2008; **283** : 12-18. - **46. Skakkebaeck N.E., E. Rajpert-De Meyts, K.M. Main** : Testicular dysgenesis syndrome : an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Hum Reprod.* 2001; **16** : 972-978. - **47. Main K.M., N.E. Skakkebaek, J. Toppari** : Cryptorchidism as part of the testicular dysgenesis syndrome: the environmental connection. *Endocr Dev.* 2009; **14** : 167-173. - **48. Brucker-Davis F., K. Wagner-Mahler, I. Delattre, et al.** : Cryptorchidism at birth in Nice area (France) is associated with higher prenatal exposure to PCBs and DDE, as assessed by colostrum concentrations. *Hum Reprod.* 2008; **23** : 1708-1718. - **49. Fénichel P., H. Déchaux, C. Harthe, et al.** : Unconjugated bisphenol A cord blood levels in boys with descended or undescended testes. *Hum Reprod.* 2012; **27** : 983-990. - **50. Richter C.A., L.S. Birnbaum, F. Farabolini, et al.** : In vivo effects of bisphenol A in laboratory rodent studies. *Reprod Toxicol.* 2007; **24** : 199-224. - **51. Nakamura D, Y. Yanagiba, Z. Duan, et al.** : Bisphenol A may cause testosterone reduction by adversely affecting both testis and pituitary systems similar to estradiol. *Toxicol Lett.* 2010; **194** : 16-25. - **52. Salian S., T. Doshi, G. Vanage** : Neonatal exposure of male rats to Bisphenol A impairs fertility and expression of sertoli cell junctional proteins in the testis. *Toxicology.* 2009; **265** : 56-67. - **53. Bouskine A., M. Nebout, F. Brücker-Davis, et al.** : Low doses of bisphenol A promote human seminoma cell proliferation by activating PKA and PKG via a membrane G-protein-coupled estrogen receptor. *Environ Health Perspect.* 2009; **117** : 1053-1058. - **54. Chevalier N., A. Bouskine, P. Fénichel** : Bisphenol A promotes testicular seminoma cell proliferation through GPER/GPR30. *Int J Cancer.* 2012; **130** : 241-242. - **55. Salian S., T. Doshi, G. Vanage** : Perinatal exposure of rats to Bisphenol A affects the fertility of male offspring. *Life Sci.* 2009; **85** : 742-752. - **56. Li D.K., Z. Zhou, M. Miao, et al.** : Urine bisphenol-A (BPA) level in relation to semen quality. *Fertil Steril.* 2011; **95** : 625-630. - **57. Institut National de Veille Sanitaire** : Projections de l'incidence et de la mortalité par cancer en France en 2010: sein. www.invs.sante.fr. - **58. Sasco, A.J.** : Epidemiology of breast cancer: an environmental disease? *Apmis.* 2001 ; **109** : 321-332. - **58 bis. Fénichel P., F. Brucker-Davis** : Environmental endocrine disruptors and breast cancer: new risk factors? *Gynecol Obstet Fertil.* 2008; **36** : 969-977. - **59. Markey, C.M., E.H. Luque, M. Munoz De Toro, et al.** : In utero exposure to bisphenol A alters the development and tissue organization of the mouse mammary gland. *Biol Reprod.* 2001; **65** : 1215-1223. - **60. Markey, C.M., P.R. Wadi, B.S. Rubin, et al.** : Long-term effects of fetal exposure to low doses of the xenoestrogen bisphenol-A in the female mouse genital tract. *Biol Reprod.* 2005; **72** : 1344-1351. - **61. Vandenberg L.N., M.V. Maffini, P.R. Wadia et al.** : Exposure to environmentally relevant doses of the xenoestrogen bisphenol-A alters development of the fetal mouse mammary gland. *Endocrinology.* 2007; **148** : 116-127. - **62. Durando M., L. Kass, J. Piva, et al.** : Prenatal bisphenol A exposure induces preneoplastic lesions in the mammary gland in Wistar rats. *Environ Health Perspect.* 2007; **115** : 80-86. - **63. Van Meeuwen, J.A., W. Ter Burg, A.H. Piersma et al.** : Mixture effects of estrogenic compounds on proliferation and pS2 expression of MCF-7 human breast cancer cells. *Food Chem Toxicol.* 2007; **45** : 2319-2330. - **64. Lapensee E.W., T.R. Tuttle, S.R. Fox, et al.** : Bisphenol A at low nanomolar doses confers chemoresistance in estrogen receptor-alpha-positive and -negative breast cancer cells. *Environ Health Perspect.* 2009; **117** : 175-180. - **64 bis. Brody J.G., K.B. Moysich, O. Humblet, et al.** : Environmental pollutants and breast cancer: epidemiologic studies. *Cancer.* 2007; **109** : 2667-2711. - **65. Rébillard X., B. Tretare, A. Villers** : The epidemiology of prostate cancer. *Rev Prat.* 2003; **53** : 2224-2228. - **66. Prins G.S., K.S. Korach** : The role of estrogens and estrogen receptors in normal prostate growth and disease. *Steroids.* 2008a ; **73** : 233-244. - **67. Yomenura C.Y, G.R. Cunha, Y. Sugimura, et al.** : Temporal and spatial factors in diethylstilbestrol-induced squamous metaplasia in the developing human prostate. II. Persistent changes after removal of diethylstilbestrol. *Acta Anat.* 1995; **153** : 1-11. - **68. Multigner L., J.R. Ndong, A. Giusti, et al.** : Chlordecone exposure and risk of prostate cancer. *J Clin Oncol.* 2010; **28** : 3457-62. - **69. Prins G.S.,**

W.Y. Tang, J. Belmonte, et al. : Perinatal exposure to oestradiol and bisphenol A alters the prostate epigenome and increases susceptibility to carcinogenesis. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2008b; **102** : 134-138. - **70. Esteller M.** : Aberrant DNA methylation as a cancer inducing mechanism. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* 2005; **45** : 629-656. - **71. Hess-Wilson J.K.** : Bisphenol A may reduce the efficacy of androgen deprivation therapy in prostate cancer. *Cancer Causes Control.* 2009; **20** : 1029-1037. - **72. Bray F., L. Richiardi, A. Ekbom, et al.** : Trends in testicular cancer incidence and mortality in 22 European countries: continuing increases in incidence and declines in mortality. *Int J Cancer.* 2006; **118** : 3099-3111. - **73. Rajpert-De Meyts E.** : Developmental model for the pathogenesis of testicular carcinoma in situ: genetic and environmental aspects. *Hum Reprod Update.* 2006; **12** : 303-323. - **74. Mills P.K., G.R. Newell, D.E. Johnson** : Testicular cancer associated with employment in agriculture and oil and natural gas extraction. *Lancet.* 1984; **1** : 207-210. - **75. Mills P.K.** : Correlation analysis of pesticide use data and cancer incidence rates in California counties. *Arch Environ Health.* 1998; **53** : 410-413. - **76. Hardell L., B. van Bavel, G. Lindström, et al.** : Increased concentrations of polychlorinated biphenyls, hexachlorobenzene, and chlordanes in mothers of men with testicular cancer. *Environ Health Perspect.* 2003; **111** : 930-934. - **77. Roger C., S. Lombard, B. Mograbi, et al.** : Human testicular seminoma cells express functional aromatase, estrogen receptor and can be regulated in vitro by estradiol. *J Mol Endocrinol.* 2005 ; **35** : 191-199. - **78. Bouskine A., M. Nebout, B. Mograbi, et al.** : Estrogens promote human testicular germ cell cancer through a membrane-mediated activation of extracellular regulated kinase and protein kinase A. *Endocrinology.* 2008; **149** : 565-573. - **79. Chevalier N., A. Vega, A. Bouskine, et al.** : GPR30, the non-classical membrane G protein related estrogen receptor, is overexpressed in human seminoma and promotes seminoma cell proliferation. *PLoS One.* 2012; **7** : e 34672. - **80. Vandenberg L.N., I. Chahoud, J.J. Heindel, et al.** : Urinary, circulating, and tissue biomonitoring studies indicate widespread exposure to bisphenol A. *Environ Health Perspect.* 2010; **118** : 1055-1070. - **81. Ho S.M., W.Y. Tang, J. Belmonte de Frausto et al.** : Developmental exposure to estradiol and bisphenol A increases susceptibility to prostate carcinogenesis and epigenetically regulates phosphodiesterase type 4 variant 4. *Cancer Res.* 2006; **66** : 5 624-5632. - **82. Völkel W., T. Colnot, G.A. Csanády, et al.** : Metabolism and kinetics of bisphenol a in humans at low doses following oral administration. *Chem Res Toxicol.* 2002; **15** : 1281-1287. - **83. Dekant W., W. Völkel** : Human exposure to bisphenol A by biomonitoring: methods, results and assessment of environmental exposures. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2008; **228** : 114-134. - **84. Ginsberg G., D.C. Rice** : Does rapid metabolism ensure negligible risk from bisphenol A? *Environ Health Perspect.* 2009; **117** : 1639-1643. - **85. Matsumoto J., H. Yokota, A. Yuasa** : Developmental increases in rat hepatic microsomal UDP-glucuronosyltransferase activities toward xenoestrogens and decreases during pregnancy. *Environ Health Perspect.* 2002; **110** : 193-196. - **86. Coughtrie M.W., B. Burchell, J.E. Leakey, et al.** : The inadequacy of perinatal glucuronidation: immunoblot analysis of the developmental expression of individual UDP-glucuronosyltransferase isoenzymes in rat and human liver microsomes. *Mol Pharmacol.* 1988; **34** : 729-735. - **87. Kaddar N., N. Bendridi, C. Harthé, et al.** : Development of a radioimmunoassay for the measurement of Bisphenol A in biological samples. *Anal Chim Acta.* 2009; **645** : 1-4. - **88. Olsen C.M., E.T. Meussen-Elholm, M. Samuelsen, et al.** : Effects of the environmental oestrogens bisphenol A, tetrachlorobisphenol A, tetrabromobisphenol A, 4-hydroxybiphenyl and 4,4'-dihydroxybiphenyl on oestrogen receptor binding, cell proliferation and regulation of oestrogen sensitive proteins in the human breast cancer cell line MCF-7. *Pharmacol Toxicol.* 2003; **92** : 180-188. - **89. Sharpe R.M.** : Is it time to end concerns over the estrogenic effects of bisphenol A? *Toxicol Sci.* 2010; **114** : 1-4. - **90. Pupo M., A. Pisano, R. Lappano, et al.** : Bisphenol A Induces Gene Expression Changes and Proliferative Effects through GPER in Breast Cancer Cells and Cancer-Associated Fibroblasts. *Environ Health Perspect.* 2012; May 2. [Epub ahead of print]. - **91. Okada H., T. Tokunaga, X. Liu, et al.** : Direct evidence revealing structural elements essential for the high binding ability of bisphenol A to human estrogen-related receptor-gamma. *Environ Health Perspect.* 2008; **116** : 32-8. - **92. Giguère V.** : Transcriptional control of energy homeostasis by the estrogen-related receptors. *Endocr Rev.* 2008; **29** : 677-696. - **93. Sun H., L.C. Xu, J.F. Chen, et al.** : Effect of bisphenol A, tetrachlorobisphenol A and pentachlorophenol on the transcriptional activities of androgen receptor-mediated reporter gene. *Food Chem Toxicol.* 2006; **44** : 1916-1921. - **94. Wright HM, Clish CB, Mikami T, et al.** : A synthetic antagonist for the peroxisome proliferator-activated receptor gamma inhibits adipocyte differentiation. *J Biol Chem.* 2000; **275** : 1873-1877. - **95. Zoeller R.T., R. Bansal, C. Parris** : Bisphenol-A, an environmental contaminant that acts as a thyroid hormone receptor antagonist in vitro, increases serum thyroxine, and alters RC3/neurogranin expression in the developing rat brain. *Endocrinology.* 2005; **146** : 607-612. - **96. Bromer J.G., J. Wu, Y. Zhou, et al.** : Hypermethylation of homeobox A10 by in utero diethylstilbestrol exposure: an epigenetic mechanism for altered developmental programming. *Endocrinology.* 2009; **150** : 3376-3382. - **97. Li S., R. Hansman, R. Newbold, et al.** : Neonatal diethylstilbestrol exposure induces persistent elevation of c-fos expression and hypomethylation in its exon-4 in mouse uterus. *Mol Carcinog.* 2003; **38** : 78-84. - **98. Bromer J.G., Y. Zhou, M.B. Taylor, et al.** : Bisphenol-A exposure in utero leads to epigenetic alterations in the developmental programming of uterine estrogen response. *FASEB J.* 2010; **24** : 2273-2280. - **99. Fei X., H. Chung, H.S. Taylor** : Methoxychlor disrupts uterine Hoxa10 gene expression. *Endocrinology.* 2005; **146** : 3445-3451. - **100. Esteller M., K. Aberrant** : DNA methylation as a cancer inducing mechanism. *Ann Rev*

Pharmacol Toxicol. 2005; **45** : 629-656. - **101. Chiam K., W.D. Tilley, L.M. Butler, et al.** : The dynamic and static modification of the epigenome by hormones: a role in the developmental origin of hormone related cancers. *Biochim Biophys Acta.* 2009; **1795** : 104-109. - **102. Volle D.H., M. Decourteix, E. Garo, et al.** : The orphan nuclear receptor small heterodimer partner mediates male infertility induced by diethylstilbestrol in mice. *J Clin Invest.* 2009; **119** : 3752-3764. - **103. Tang W.Y, R. Newbold, M. Mardilovitch, et al.** : Persistent hypomethylation in the promoter of nucleosomal binding protein 1 (Nsbp1) correlates with overexpression of Nsbp1 in mouse uteri neonatally exposed to diethylstilbestrol or genistein. *Endocrinology.* 2008; **149** : 5922-5939.

TRENTE-TROISIÈMES
JOURNÉES NICOLAS GUÉRITÉE D'ENDOCRINOLOGIE
ET MALADIES MÉTABOLIQUES

SE TIENDRONT LES

VENDREDI 29 ET SAMEDI 30 NOVEMBRE 2013

au Grand Amphithéâtre de la Faculté de Médecine des Saints-Pères
à Paris

NOTES