<u>Déclaration d'intérêts de Mme/M.</u> :CHAGNON MARIE-CHRISTINE…….

- **Activités de conseil, fonctions de gouvernance, rédaction de rapports**

  Non *Société(s) : ……*

- **Essais cliniques, autres travaux, communications de promotion**

  Non *Société(s) : ……*

- **Intérêts financiers (actions, obligations)**

  Non *Société(s) : ……*

- **Liens avec des personnes ayant des intérêts financiers ou impliquées dans la gouvernance**

  Non *Société(s) : ……*

- **Réception de dons sur une association dont je suis responsable**

  Non *Société(s) : ……*

- **Perception de fonds d'une association dont je suis responsable et qui a reçu un don**

  Non *Société(s) : ……*

- **Détention d'un brevet, rédaction d'un ouvrage utilisé par l'industrie**

  Non *Société(s) : ……*

Le Bisphénol A

un perturbateur du métabolisme énergétique

MC CHAGNON

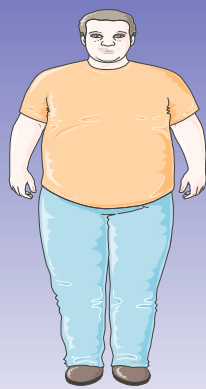
PROFESSEUR DE TOXICOLOGIE ALIMENTAIRE-Laboratoire de Nutrition et Toxicologie Alimentaire-NUTOX

INSERM UMR U866, DIJON

OBESITE- UNE PANDEMIE

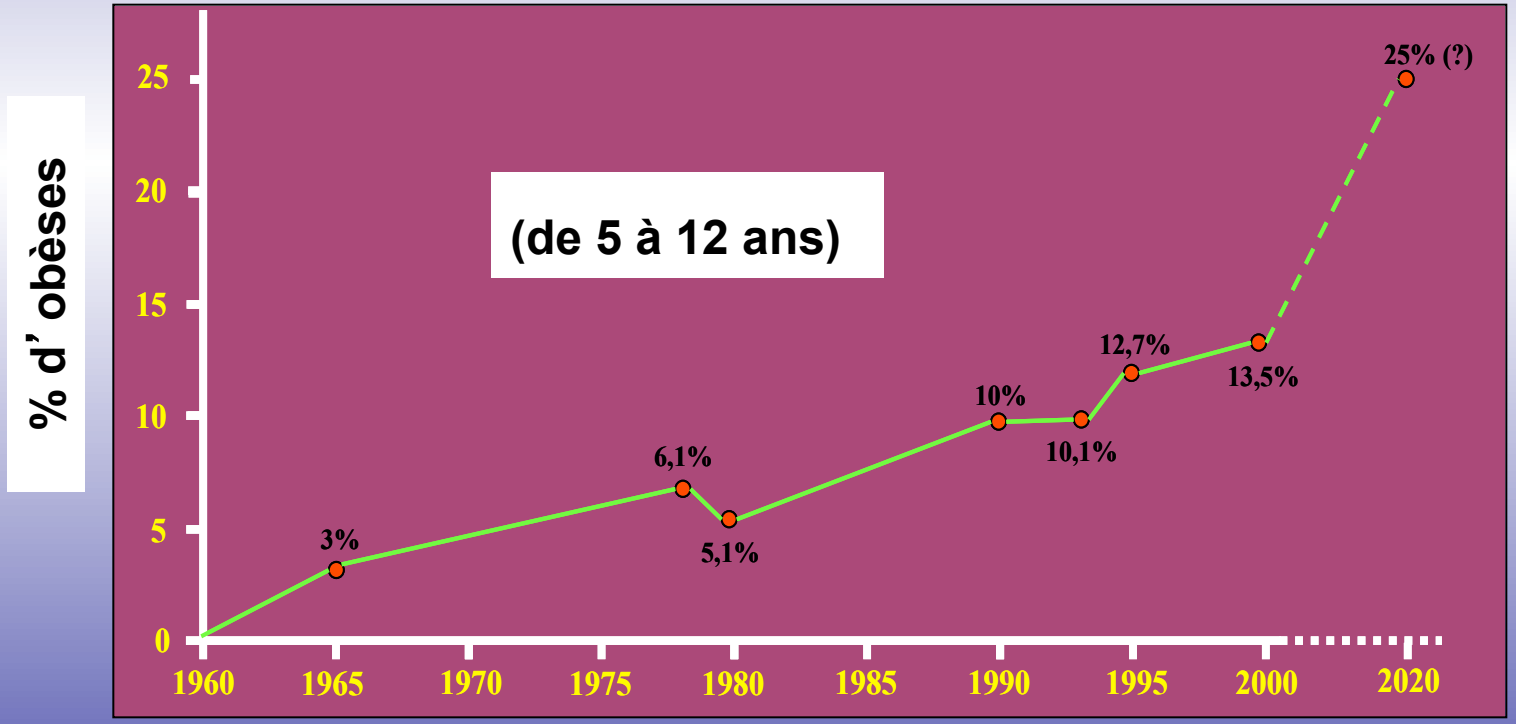
Pathologies à risques « Top ten » (OMS)

En France (Données ObEpi-Roche 2012) :



Augmentation de la prévalence de 8,5% en 1997 à 15% en 2012

Augmentation continue de la prévalence de l'obésité infantile

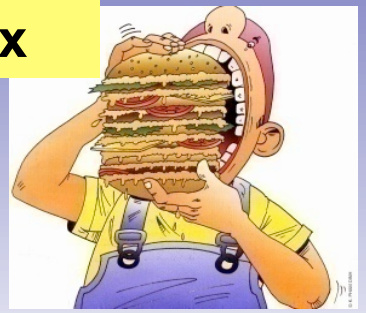


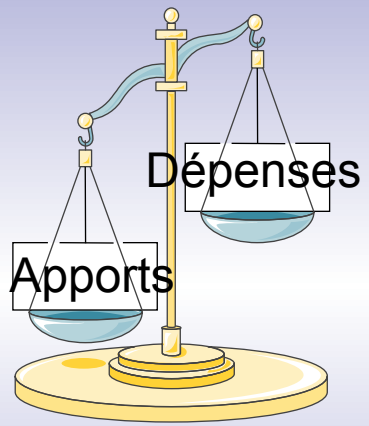
D'après Jacques Cheymol-REPOP

OBESITE-ETIOLOGIE

Facteurs génétiques

Facteurs comportementaux





Facteurs sociétaux

Traitements médicamenteux

Endocrinopathies

Facteurs environnementaux

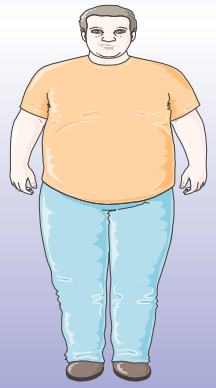
Molécules chimiques (Baillie-Hamilton, 2002)

MC CHAGNON -2012

CONTAMINANTS ET OBESITE

« Obésogène » Grün et Blumberg (2006)

Métaux lourds
Tributylétain, MBT…
Nonylphénol
Dithiocarbamates
POP (Dioxines, PCB, PPB, DDT…)
Phtalates
Bisphénol A…



PERTURBATION ENDOCRINIENNE ET OBESITE

« Un perturbateur endocrinien, une substance naturelle ou synthétique qui par le biais de l'environnement et à des expositions inapropriées pendant le développement altère les systèmes hormonaux et homéostasiques qui permettent à l'organisme de communiquer avec et de répondre à son environnement »

EXPOSITION PRENATALE ET PERINATALE

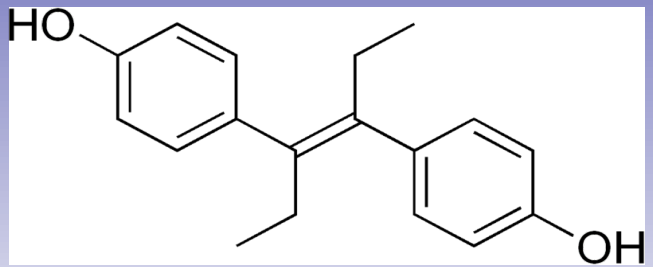
(Gluckman et Hanson, 2004)

«The fetal basis of adult disease»
Barker, 2003

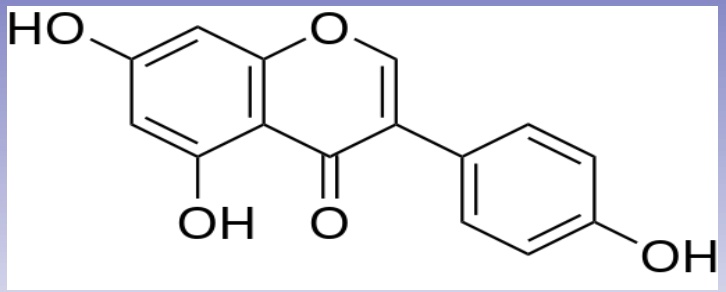
EFFET TRANSGENERATIONNEL

Anway et Skinner,2006; Skinner *et al.*, 2010; Kundalovic et Champagne, 2011

PERTURBATION ENDOCRINIENNE ET OBESITE



Diéthylstilbestrol



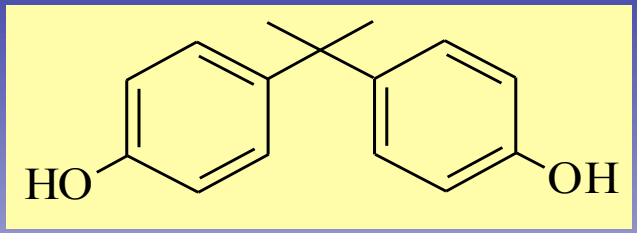
Génistéine

DES, génistéine : à faible dose surpoids à la puberté chez les rongeurs (Newbold *et al., 2005,* 2007, 2008).

L'utilisation de souris KO (ERα , AR, aromatase, FSH) montrent le rôle des hormones stéroïdiennes dans l'adipogénèse, le développement et la prise de poids…

Souris Ko ERRα (NR3B) sont résistantes à l'obésité

(Luo *et al.,* 2002)



BISPHENOL A

> 3 10^6 de tonnes produites dans le monde chaque année

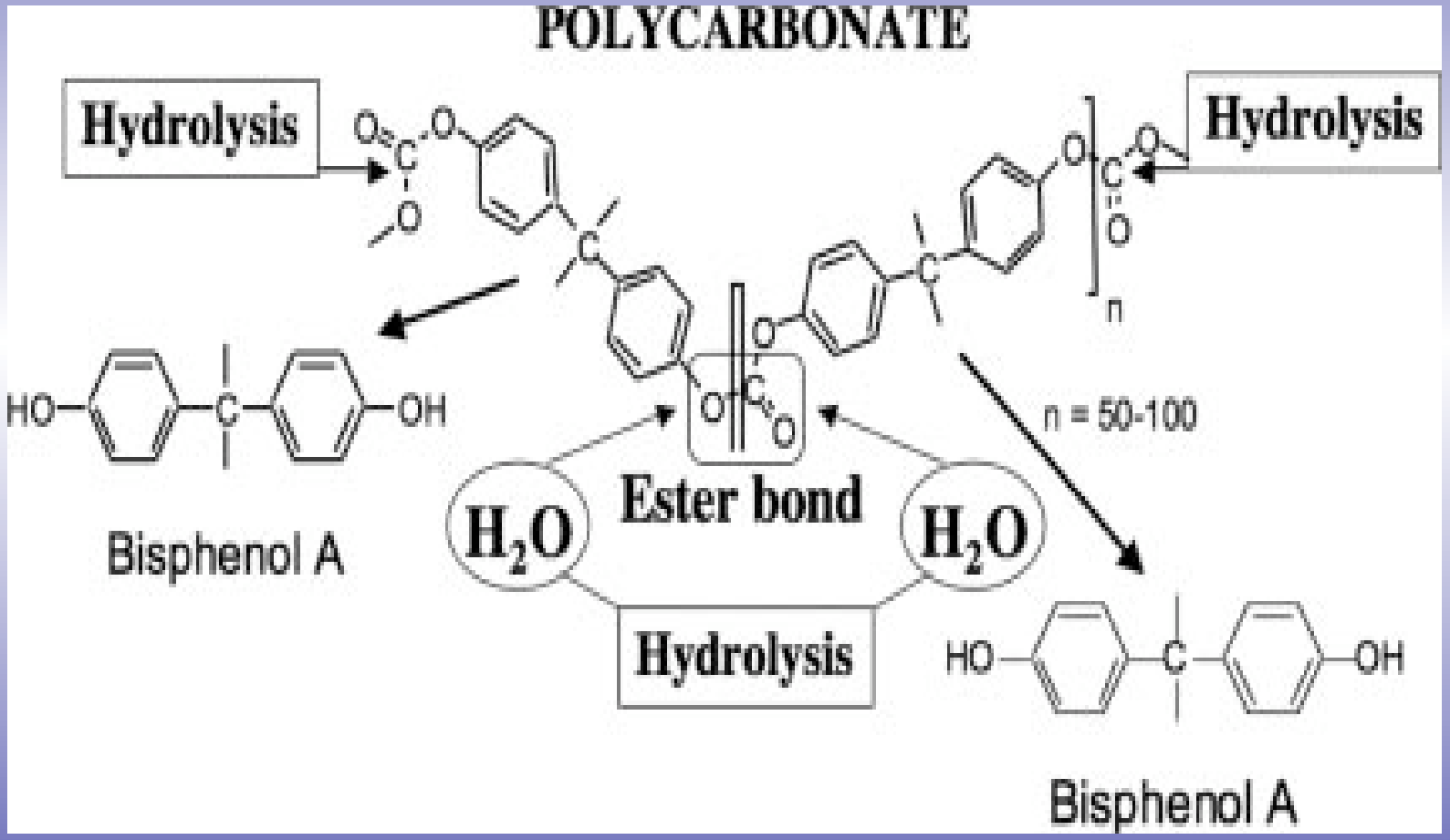
Contaminant de l'environnement (43 ppb dans les eaux européennes, Klecka *et al*., 2009)

Voies d'exposition :

l'alimentation , boites de tomates , 115, 3 µg/kilo de tomate (Grumetto et al., 2008). Enfants exposés par le biais des biberons et les adultes par les cannettes (Matsumoto et al., 2003)

les amalgames dentaires, les poussières ménagères et la voie dermique (Taylor et al., 2011).

RELARGAGE DU BPA A PARTIR DE POLYCARBONATE



D' après Welshons *et al.*, 2006

EXPOSITION AU BPA –ALIMENTATION (EFSA)

Age	Produits consommés	Exposition en BPA (µg/kg p.c./j)
Nourrisson de 3 mois	Lait maternel seul	0,2
Nourrisson de 3 mois	Lait infantile Biberon en verre ou sans polycarbonate	2,3
Nourrisson de 3 mois	Lait infantile Biberon en polycarbonate	11
Nourrisson de 6 mois	Lait infantile avec biberon en PC Boisson et aliments commerciaux	13
Enfant de 1,5 ans	2 kg de boissons et aliments commerciaux	5,3
Adulte	Boissons et aliments commerciaux	1,5

Nourrissons et enfants de 1 à 5 ans sont les plus exposés

BPA ET FLUIDES BIOLOGIQUES

Bisphénol A présent dans les urines de plus de 92 % des américains (Calafat *et al*., 2008) urine: 0,1ng/ml.

Plasma : 0,2 à 1,6 ng/ml (0,88-7 nanoM) Sajiki *et al*.,1999.

Bisphénol A traverse la barrière placentaire (Balakrisnan *et al*., 2010)

. Plasma maternel :0,3 à 18,9ng/ml

•Plasma fœtal : 0,2 à 9,2 ng/ml (sup ♂)

•Liquide amniotique: 8,3-8,9ng/ml

•Placenta : 1 à 104,9 ng/ml

•Lait 0,61± 0,2ng/ml

Welshons *et al*., 2006

BPA détecté dans le tissu adipeux (Fernandez *et al*., 2007).

BISPHENOL A- REGLEMENTATION

Dose Journalière Tolérée pour l'Homme :

50µg/kg p.c./jour EFSA (2006, 2008)

Règlement emballages à contact alimentaire UE 10/2011

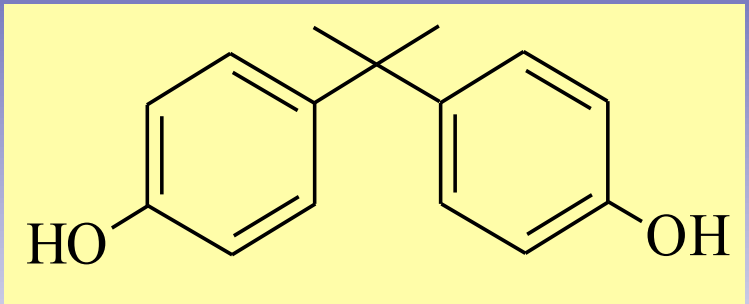
Limite Migration Spécifique BPA: 0,6 mg/kilo d'aliment

**NOMBREUX AVIS,
LA DJT N'A PAS ETE
MODIFIEE…**

**Règlement 321/2011 : interdiction
d'utiliser du bisphénol A dans les biberons en plastique.**

www.efsa.europa.eu

BPA- DIVERSITE DES MODES D'ACTION



Perturbateur endocrinien ; effet sur l'appareil reproducteur mâle et femelle, cancers hormonaux dépendants (glande mammaire à faible dose et périnatale, prostate)…

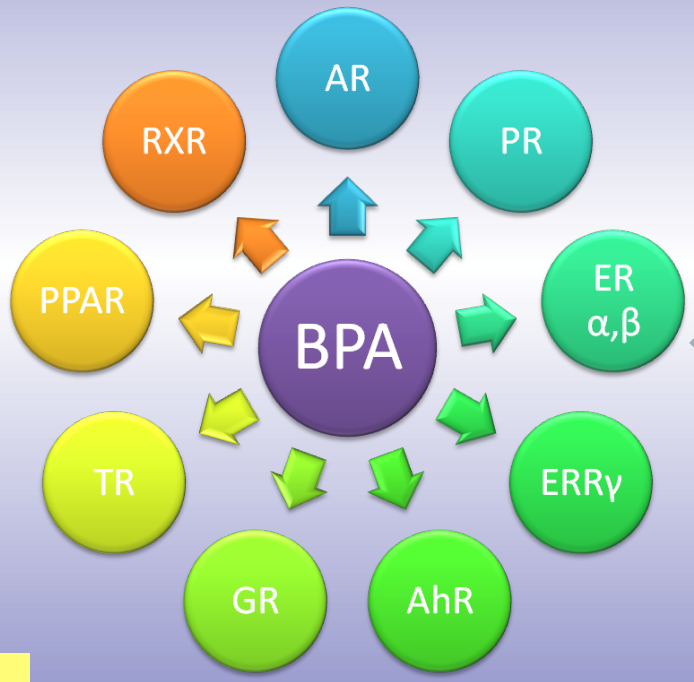
Autres effets:

Neurotoxique, dommages sur le foie (stress oxydatif), dysfonctionnement des cellules β pancréatique (Ropero *et al*, 2008, Alonso-Magdalena, 2006), thyroïde, différenciation adipocytaire, altération fonction intestinale (perméabilité, réponse immunitaire à l'inflammation, Braniste *et al*., 2010)
Système immunitaire (Rogers *et al*., 2013)

AU NIVEAU MOLECULAIRE

Agoniste des ERα et β (Bolger *et al*., 1998), antagoniste du AR (Lee et al., 2003), antagoniste du TR (Moriyama et al., 2002), active le GR (Sargis et al., 2010), antagoniste du AHR (Kruger et al., 2008) PR (Rivas et al., 2002)

Modifie l'expression des ARNm de *RXR (*agoniste indirect) *et PPARs:*
Métabolisme des lipides
Adipogénèse

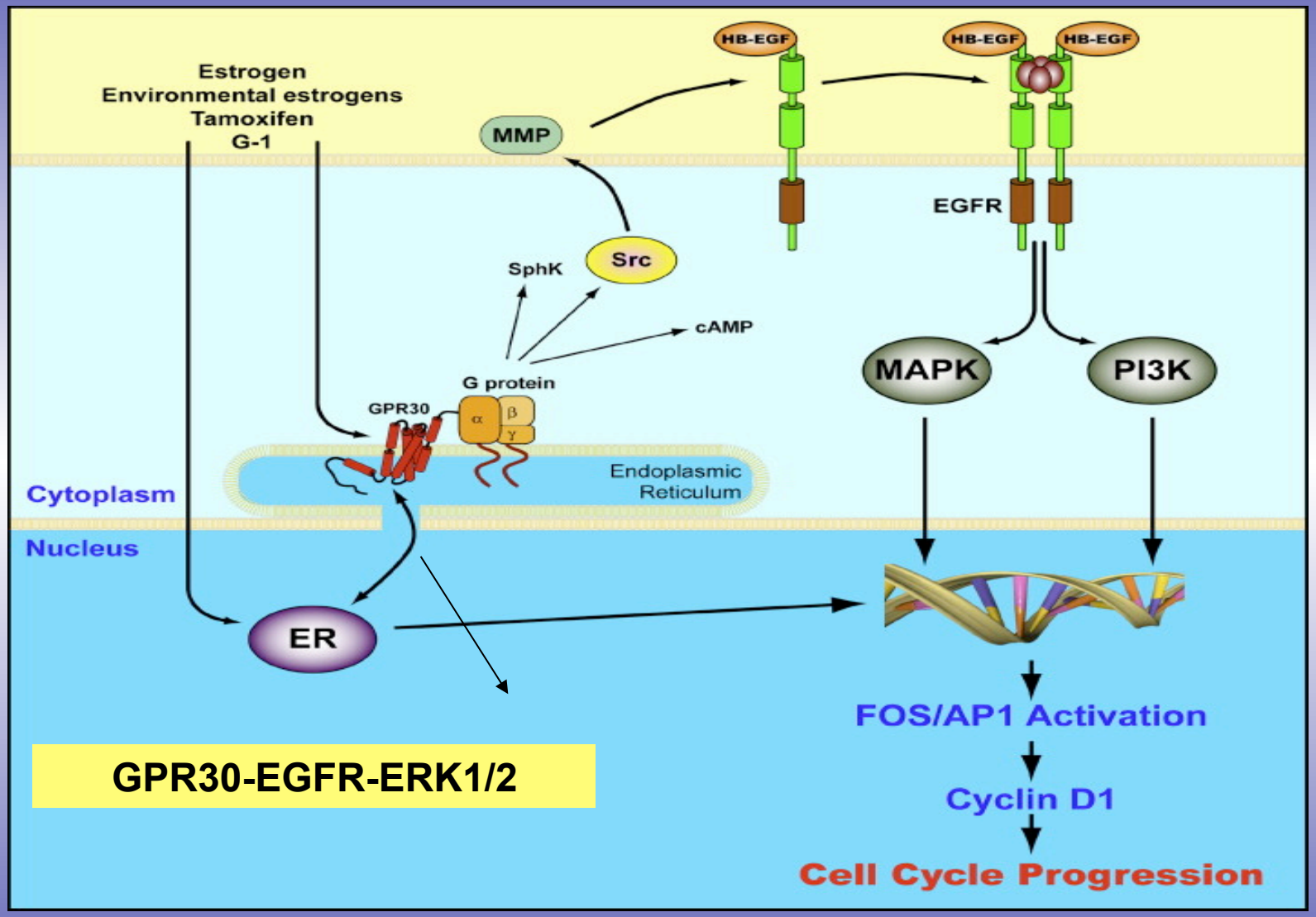


ERR *γ* (Okada *et al*., 2008)
ERR α β γ
Rôle dans l'homéostasie énergétique (Guigère, 2008)

NishiZawa *et al*., 2005

BALANCE ENERGETIQUE

EFFET GENOMIQUE ET NON GENOMIQUE DES XENOESTROGENES



GPR30-EGFR-ERK1/2

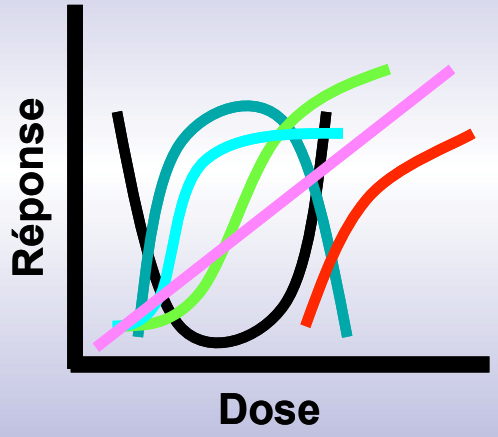
D'après Prossnitz et Magglioni, 2009

Thomas et Dong , 2006

EFFET FAIBLE DOSE BPA-COURBE NON MONOTONE

Plus de <u>150 publications</u> chez l'animal montrent des effets faibles doses ! (Richter *et al.*, 2007)

Vom Saal *et al.*, 2007, Welshons *et al.*, 2006, Goodman *et al*, 2006



- Linéaire
- U
- U-inversé
- Non linéaire avec un seuil
- Non linéaire
- Non linéaire asympotique

DES EFFETS CHEZ LE RAT ET LA SOURIS INFERIEURS A LA DJT

EVALUATION DES RISQUES ?

BPA ET DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES

Corrélation taux urinaires en BPA

STRESS OXYDATIF (Hong *et al*., 2009; Yang *et al*., 2009)

MALADIES CARDIOVASCULAIRES (Melzer *et al*., 2010).

OBESITE (Lang *et al*., 2009): 3,91 ng/l doublée chez les obèses avec un IMC > 35.

CONCENTRATIONS ANORMALES EN ENZYMES HEPATIQUES (Lang *et al.*,2009)

CONCLUSION RAPPORT ANSES BPA, 2011

Chez l'animal : effets sur la lipogenèse suite expo pré, périnatale ou à l'âge adulte ; effets **avérés**.

Chez l'Homme : Pathologies cardiovasculaires et diabètes ; effets **suspectés**.

BISPHENOL A : UNE MOLECULE OBESOGENE -MURINS

Souris ICR (Miyawaki *et al.*, 2007)

Exposition gestation et PND 30
BPA dans l'eau (0,3 et 3 mg/kilo pc /jour)

♀: hypercholestérolémie et une augmentation de la leptine
♂: hypertriglycéridémie

Rats Sprague Dawley : (0,1 à 1,2 mg/kgpc/j eau) gestation - lactation surpoids 10% chez les petits (Rubin *et al.*, 2001). Augmentation du poids corrélée à la MG à PND21 chez la femelle (Somm *et al.*, 2009)

Effet non monotonique

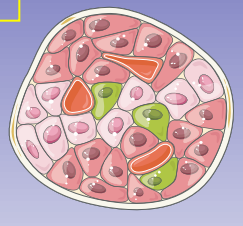
Rats Wistar : gavage (gestation et lactation), surpoids à 50µg, effet exacerbé avec un régime riche en graisse (Wei *et al.*, 2011).

Ryan *et al.*, 2010, souris CD-1 exposition BPA dans la nourriture …

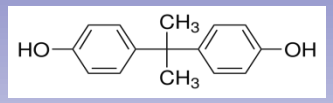
RESULTATS CONFIRMES *IN VITRO*

PANCREAS

Îlots de Langherans



Adachi *et al.*, 2005



Alphonso-Magdalena, 2008

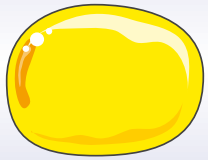
Insuline

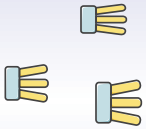
Masuno et al., 2002, 2005

Insuline

Pré-adipocytes
3T3-L1 murine

Différenciation





Accumulation de lipides

Wada *et al*, 2007

adipocytes

Leptine

Lee *et al*., 2008

adiponectine

Explants humain tissu adipeux,

Hugo *et al* , 2008

BPA METABOLISME ENERGETIQUE

LE CORRE L., BESNARD P. and MC CHAGNON

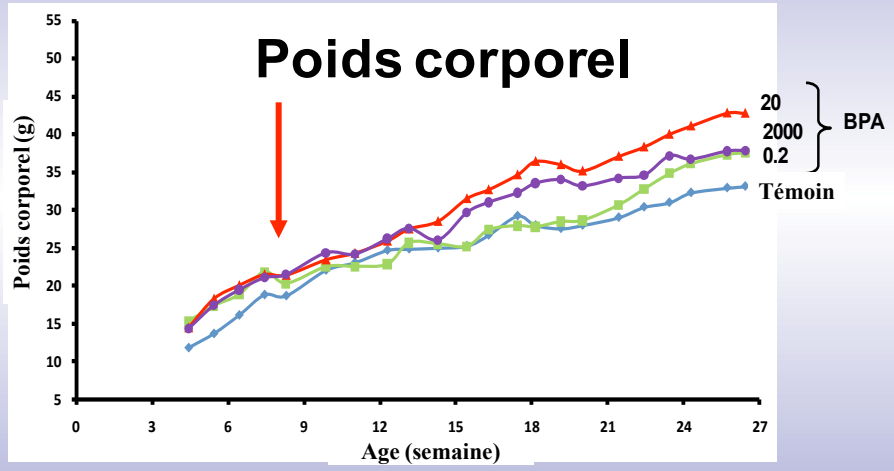
« BPA an Energy Balance Disruptor »

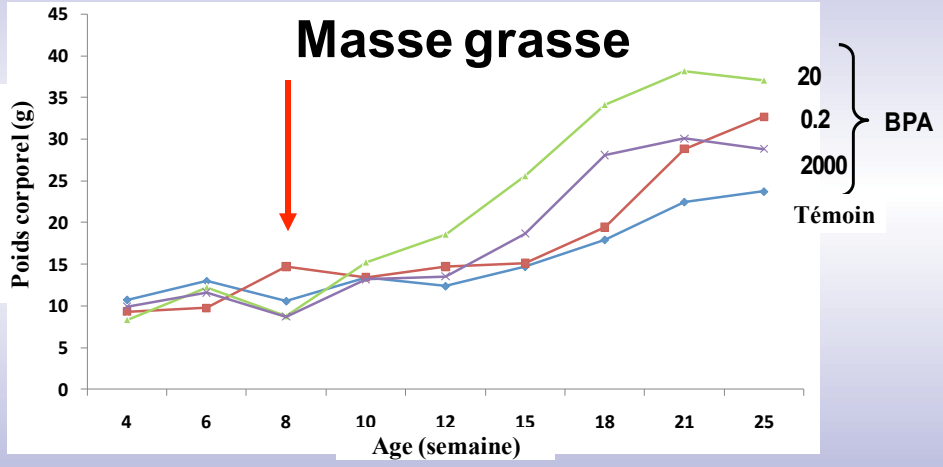
Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition, 2013

sous presse

BPA –PRISE DE POIDS ET MASSE GRASSE

REGIME HYPERLIPIDIQUE (60% KCAL)

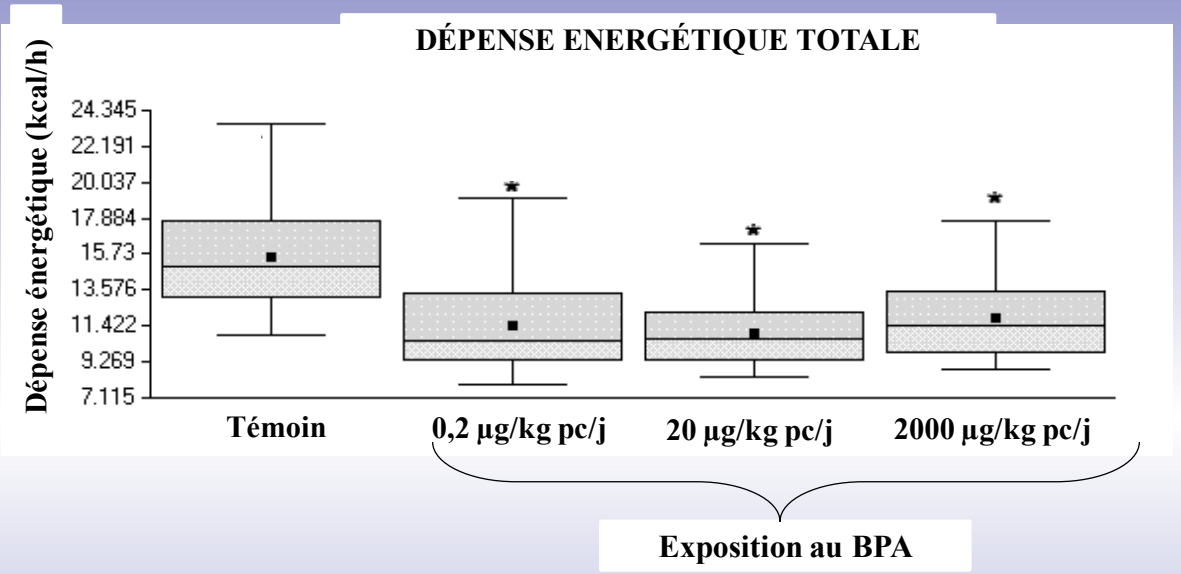


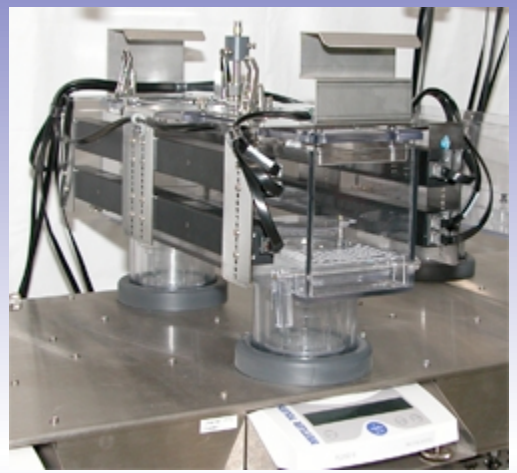


SOURIS MALES :

PRISE DE POIDS DE 15 A 30 % (20µg/kilo/jour) ASSOCIEE A UNE AUGMENTATION DE LA MASSE GRASSE (ECHO-MRI)

BPA –DIMINUTION DE LA DEPENSE ENERGETIQUE



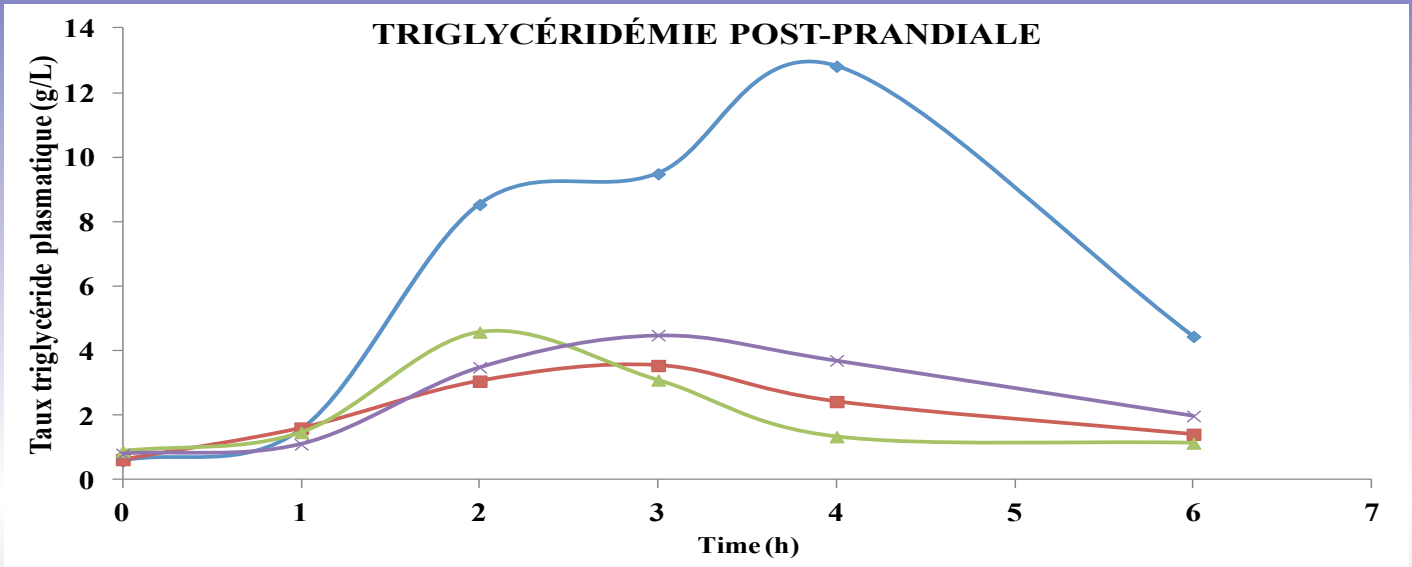


Cage à système CLAMS

$$\text{Dépense Energétique Totale} = (3{,}185 + 1{,}132 \times QR) \times V_{O2}$$

LA PRISE DE POIDS EST ASSOCIEE A UNE DIMINUTION DE LA DEPENSE ENERGETIQUE (20%)

BPA –TG PLASMATIQUES



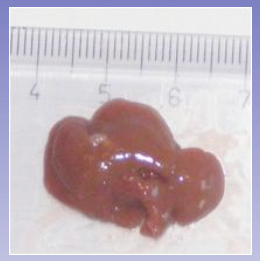
TEST DE « SURCHAGE LIPIDIQUE » (Petit *et al.*, 2007)

HYPOTRIGLYCERIDEMIE CHEZ LES SOURIS EXPOSEES AU BPA

AUGMENTATION DE LA CLEARANCE DES TG EN POST-PRANDIAL

BPA -STEATOSE HEPATIQUE-FAIBLE DOSE

A)



Témoin

B)

BPA 0.2µg/kg pc/j

STEATOSE HEPATIQUE CHEZ LES SOURIS TRAITEES AU BPA

Foies souris : **modification de l'expression de gènes de la lipogenèse dans le foie (Marmugi *et al.*, 2012)**

Foies rats femelles : surexpression de gènes de la lipogenèse

(SREB-1C, FAS, ACC,PPAR γ) (Somm *et al.*, 2009)

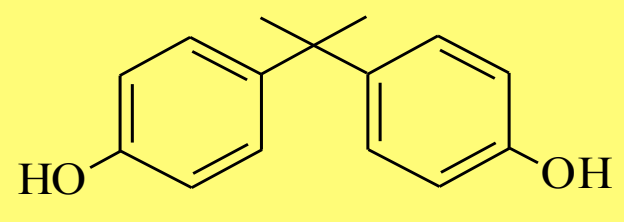
Accumulation de TG lignées d'origine hépatique HuH-7 et HepG2

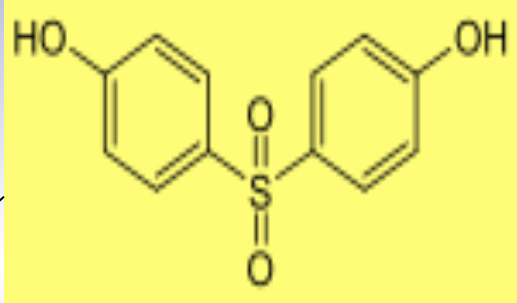
(Wada *et al.*, 2007) (Huc *et al.*, 2012)

PROJET MELBA

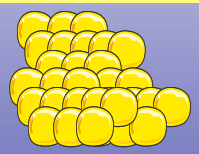
PNRPE
PROGRAMME NATIONAL DE RECHERCHE SUR LES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS

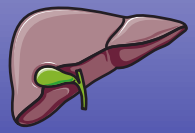
Le BPA et le BPS sont ils « obésogènes » chez la souris à faibles doses lors d'une exposition prénatale et postnatale ?





Approches physiologiques *in vivo* ; intestin, tissu adipeux et foie



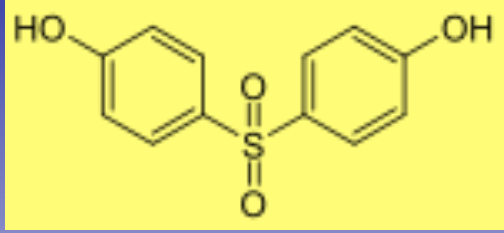


Mécanismes moléculaires, *in vitro*; Caco-2, 3T3-L1, HepaRG, HepG2, hépatocytes de souris

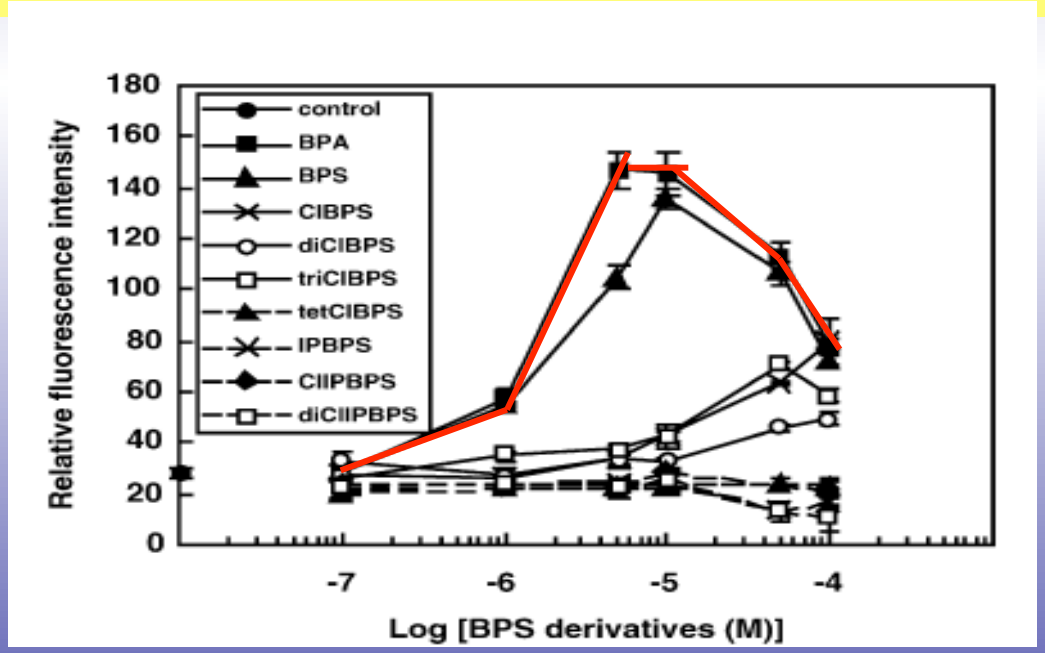
NUTOX 866 — AGRO SUP DIJON — Inserm — uB

ToXalim — RESEARCH CENTRE IN FOOD TOXICOLOGY — Alimentation Humaine & Santé Animale

BISPHENOL S



- **Polyéthersulfones, ustensiles de cuisine, papier thermique (Japon)**
- **LMS à 0,05 mg/kg (CE 10/2011).**
- **Etudes sur le BPS datent de plus de 10 ans (Saisine ANSES, 2010, SA, 0040). Une dizaine de publications…**



Activation transcriptionnelle MCF7.

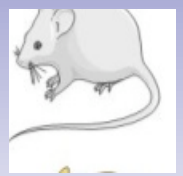
BPA:
BPS:

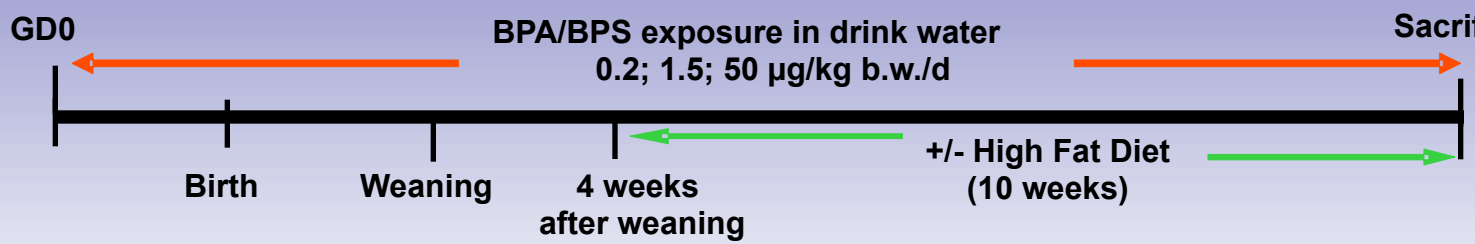
Kuruto-Niwa *et aL.*, 2005

BPS OESTROGENIQUE *IN VITRO*

EXPOSITION BPA/BPS

Souris, C57Bl/6





ETUDES SUR LA PORTEE DES SOURIS TRAITEES AU BPA OU BPS

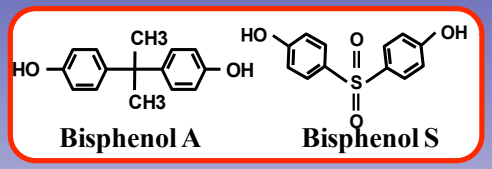
0,2 µg/kilo p c/jour (dose environmentale)

1,5 µg/kilo p c/jour (exposition adulte par le biais des aliments et des boissons)

50 µg/kilo p c/jour (DJT du BPA fixée par l'Europe)

WORKPACKAGE 1: INTESTIN ET METABOLISME DES LIPIDES

NUTOX 866
AGROSUP DIJON
Inserm uB



Monitoring of :
Body Weight (Food intake, metabolic cage)
Fat Body Mass (ECHO-MRI)
Energy Expenditure (CLAMS)

In vivo Isolated Intestinal Loop

Lipid load test
+/- LPL inhibitor (tyloxapol)

Dietary lipids

CD36

Absorption ?

L-FABP
MTP

ERRs

PPARs

Lipid metabolism?

Enterocyte

Lymph

Blood

Post-prandial triglyceridemia and TG clearance?

LPL

Adipose Tissues

Triglycerides

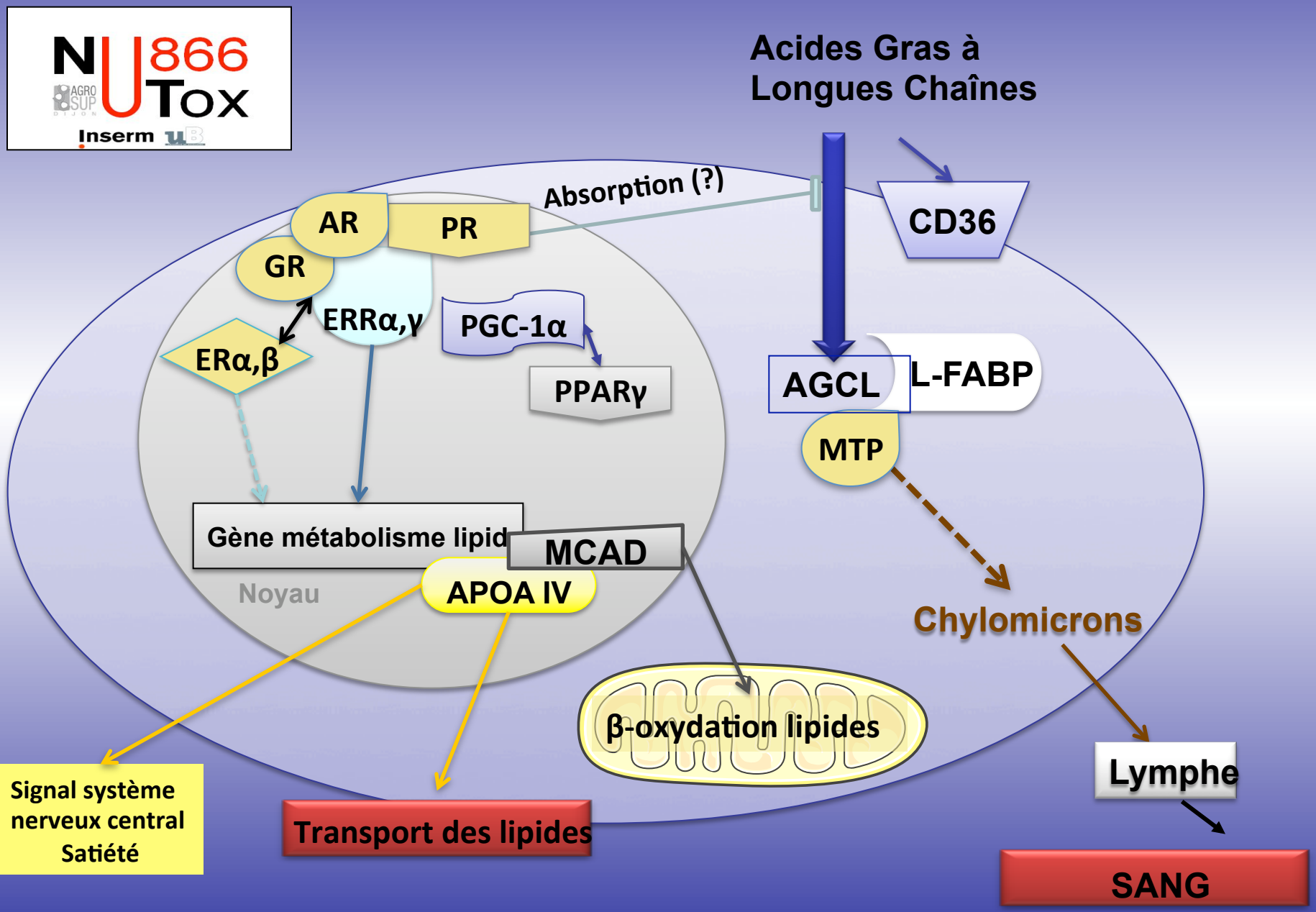
*LPL: LipoProtein Lipase

Analysis of plasma physiological parameters (TG, TC, glucose, hormones….)

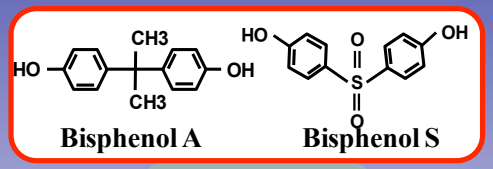
Gene expression
qPCR, WB analyses

Niot *et al*, 2009

EXPRESSION MARQUEURS SPECIFIQUES- INTESTIN



WORKPACKAGE 2: FOIE ET TISSU ADIPEUX METABOLISME LIPIDES



WP1

IN VIVO

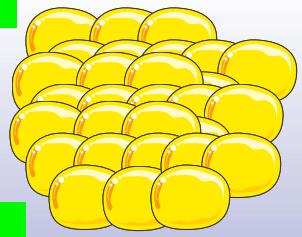
Toxalim RESEARCH CENTRE IN FOOD TOXICOLOGY — Alimentation Humaine & Santé Animale

Tissu adipeux: Sous cutané et viscéral

Métabolisme des lipides?

Différentiation?

Métabolisme énergétique?

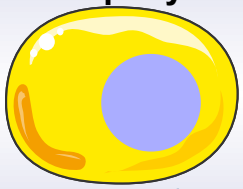


Expression gènes qPCR, WB

PARTNER 2

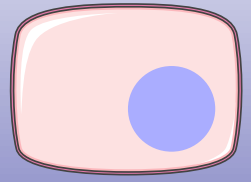
IN VITRO

Mouse 3T3-L1 adipocyte



Différentiation?

Lipogenese?



Lipolyse?

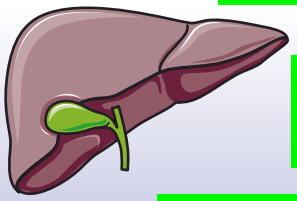
Hépatocytes de souris
HepaRG
HepG2/PXR

Expression de gènes qPCR, WB

FOIE

Métabolisme énergétique?

Métabolisme Lipides?



Stéatose?

Néoglucogénèse?

Métabolisme de détoxification

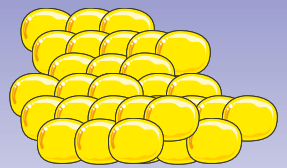
Expression gènes qPCR, WB

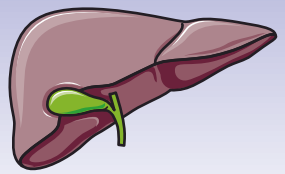
EXPRESSION MARQUEURS SPECIFIQUES-TISSU ADIPEUX ET FOIE

Toxalim RESEARCH CENTRE IN FOOD TOXICOLOGY — Alimentation Humaine & Santé Animale

RTqPCR

Western Blot





Balance énergétique

ERRαγ

Perturbation endocrinienne

AR, ERs, PR, GR

Métabolisme des lipides

MCAD, FAS, MTP, L-FABP, PGC-1α, APOAIV

Métabolisme des xénobiotiques

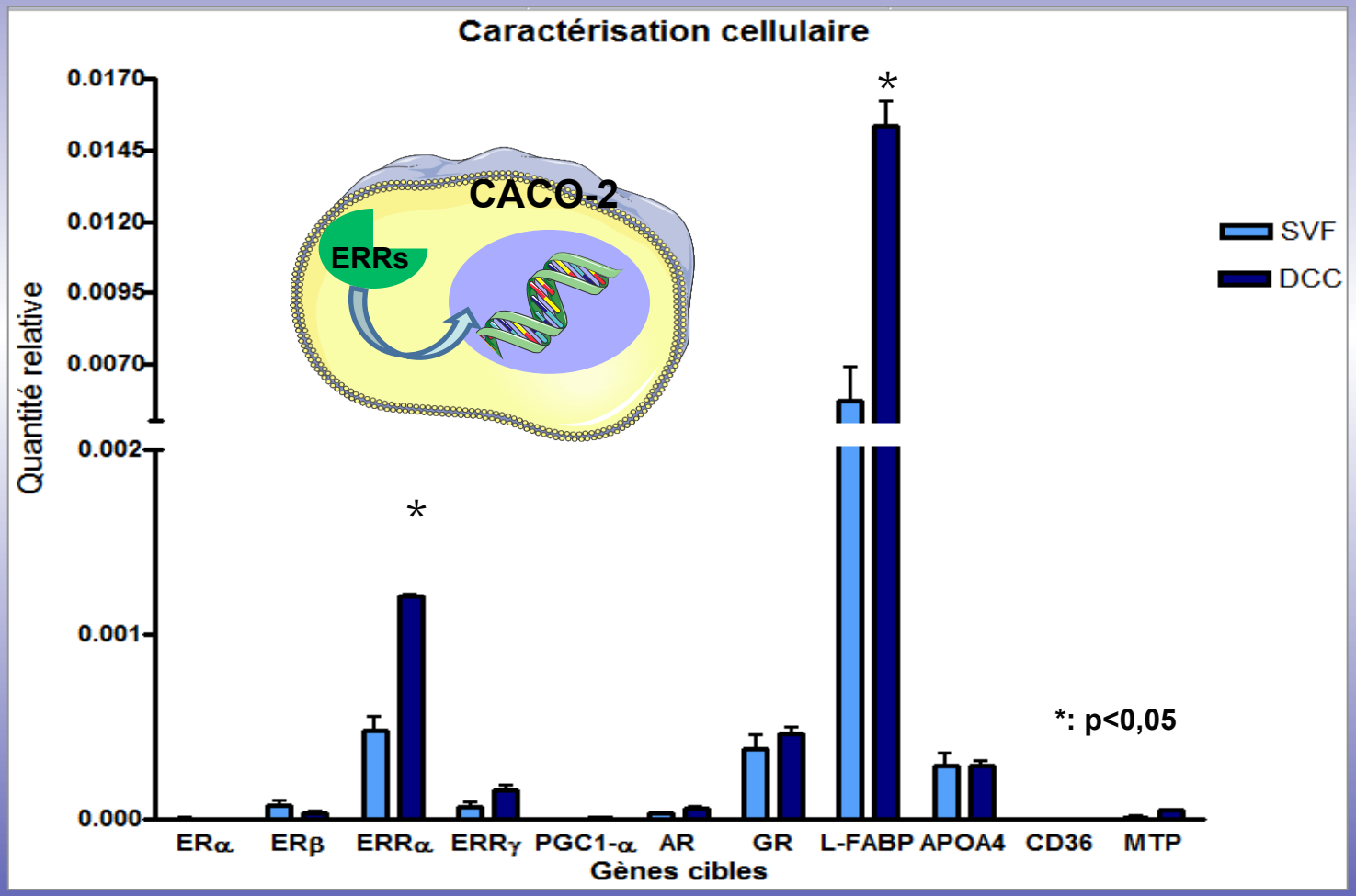
CyP 3A, PXR, LXR, CAR, Cyp2E

Différenciation adipocytaire et stéatose

aP2, LHS, LPL, PPAR γ-2,

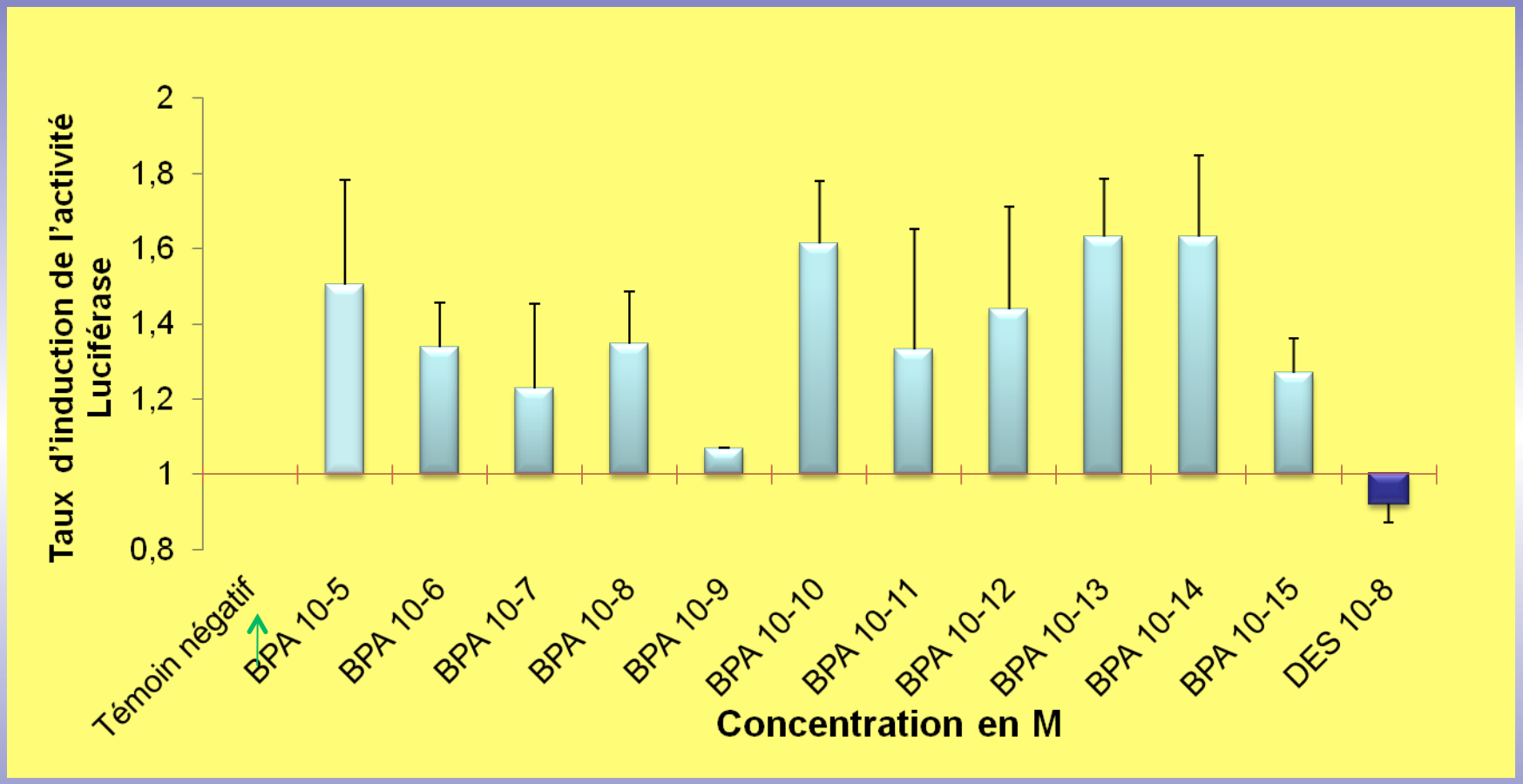
FAS N, SCD1,SREBP-1, FOXO2, FBP1, PEPCK

CARACTERISATION LIGNEE CACO-2



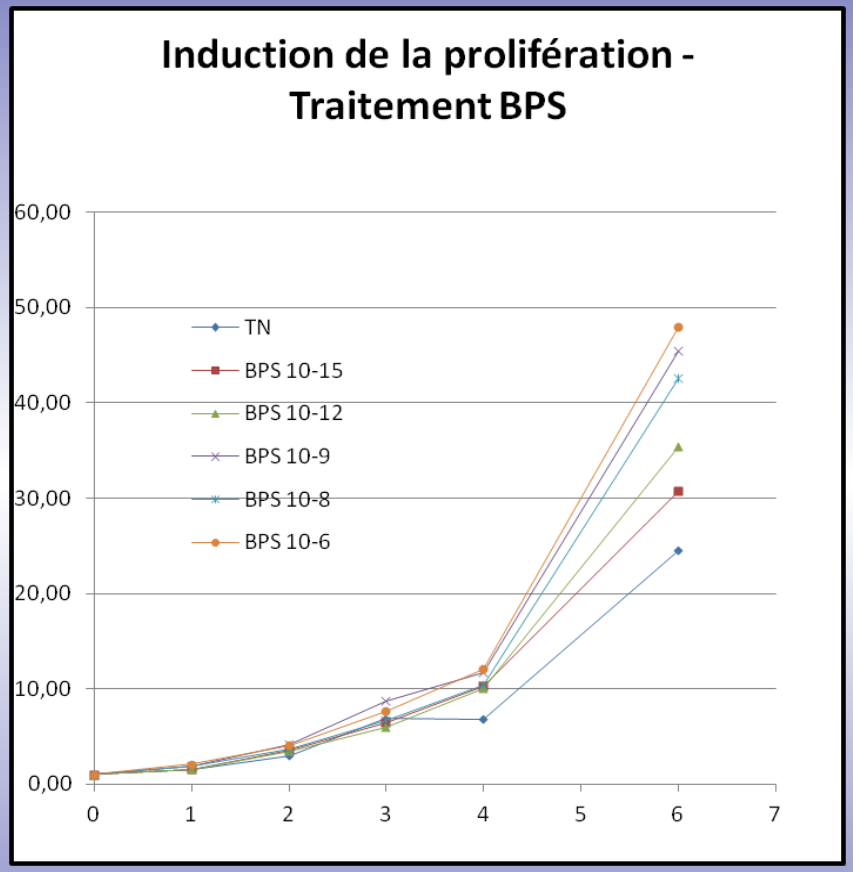
72 heures incubation

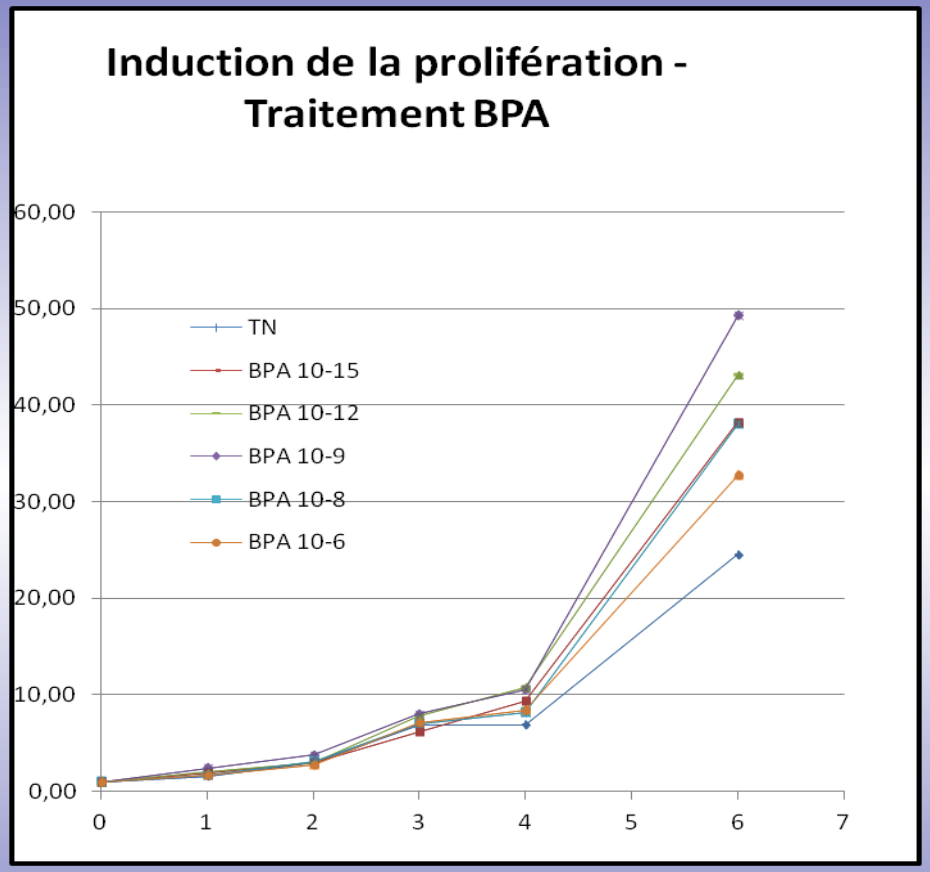
Lignée CaCo2-ERRE-Luc -EXPOSITION BPA



BPA AGONISTE PARTIEL DU ERRα

PROLIFERATION- LIGNEE CACO2



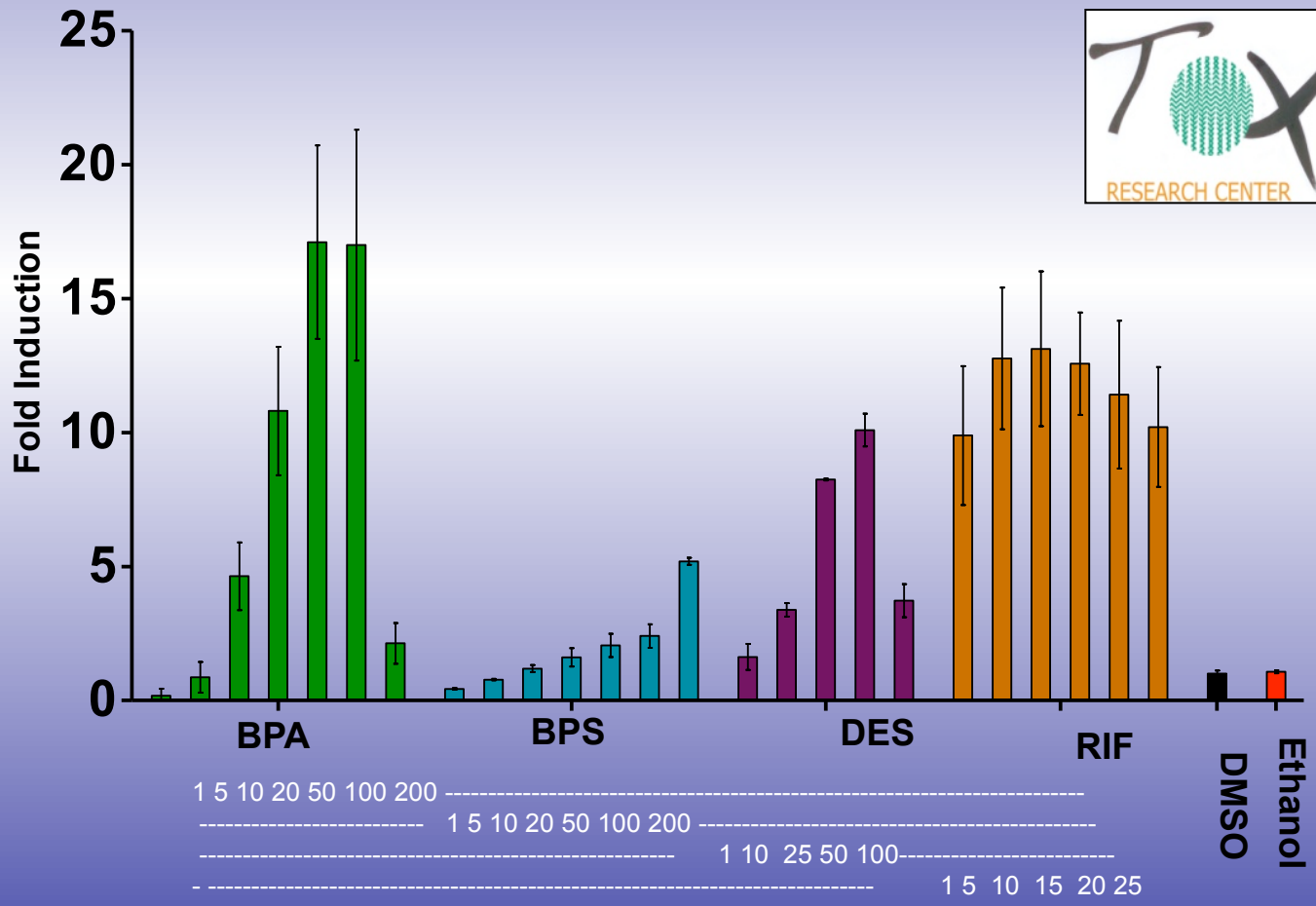


BPA et BPS induisent la prolifération des Caco2

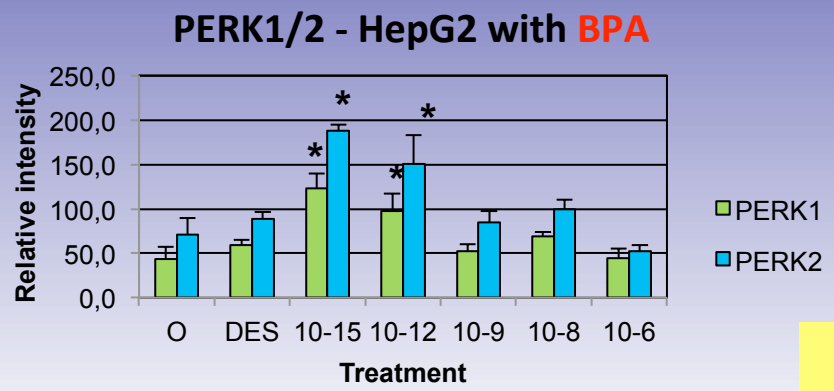
Voies génomiques et/ou non génomiques ?

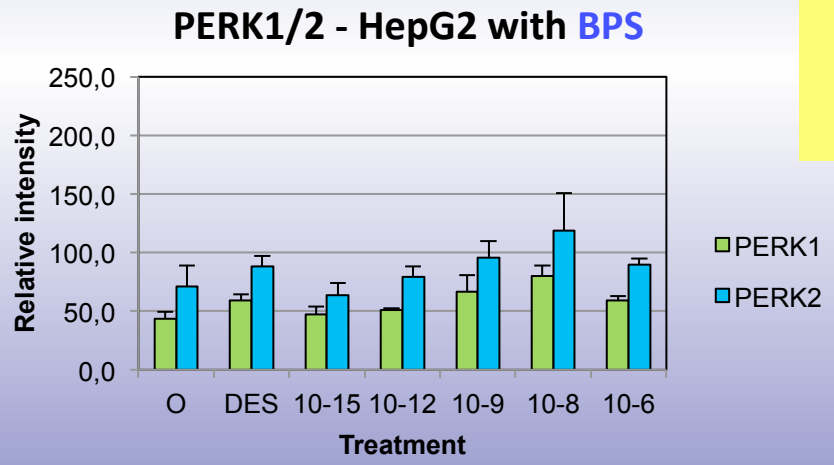
HEPG2-Activation du PXR

HEPG2 transfectées avec PXR (24 heures exposition)



LIGNEE HEPG2-PHOSPHORYLATION DE ERK1-ERK2-WESTERN BLOTT





Croissance HEPG2 et activation de la phosphorylation de ERK1 et ERK2 à faible dose de BPA

En accord avec Alfonso-Magdalena, 2008

CONCLUSION

Effet obésogène du BPA à faibles doses chez la souris après une exposition chronique dans l'eau de boisson

Caco2 : BPA agoniste partiel du ERRα et une prolifération cellulaire en présence de BPA ou de BPS

HepG2 Induction du PXR avec le BPA à forte dose,

prolifération cellulaire à faible dose avec phosphorylation de ERK1 et 2 (BPA>BPS)

Effet non monotonique avec le BPA

Améliorer l'évaluation des risques du BPA et de ses substituts

Etablir une relation PE et obésité

Identifier de nouveaux « sensors » de l'obésité et du syndrome métabolique.

UMR 866 INSERM
NUTox

Chagnon MC
Le Corre L.
Besnard P.
Ivry L
Niot I.
Poirier H.
Merlin J.F.

MELBA

TOXALIM
Héliès C.
Rouimi P.
Rhamani R.
De Sousa G.

marie-christine.chagnon@u-bourgogne.fr