

Bisphénols A et F : leur exposition prénatale favorise les troubles anxieux et perturbent l'intégrité synaptique chez la souris

Agnès PETIT-PAITEL | paitel@ipmc.cnrs.fr

CNRS - Institut de pharmacologie moléculaire et cellulaire - UMR7275 - Valbonne

Mots clés : Anxiété, bisphénol A, bisphénol F, cerveau, dépression, synapses

Le bisphénol A (BPA) est un composé organique synthétique retrouvé dans de nombreux emballages et produits en plastique (1). Perturbateur endocrinien^{*} reconnu, son utilisation pour la fabrication des récipients alimentaires est interdite en France depuis janvier 2015. Néanmoins, les anciens contenants alimentaires en plastique sont toujours une source de contamination pour les particuliers à travers le monde. Pour preuve, plus de 90% des américains adultes présentent des taux détectables de BPA dans leurs urines (2). Plus inquiétant encore, le BPA traverse la barrière placentaire (3), affecte le développement du fœtus et produit des effets à long terme sur la structure et le fonctionnement cérébral (4,5). Des travaux chez la souris mettent en évidence que l'exposition prénatale au BPA augmenterait la susceptibilité d'apparition de troubles associés à l'anxiété et à la dépression (6). Certains industriels ont fait le choix de substituer le BPA par un analogue structural, le bisphénol F (BPF) (7), dont la toxicité sur le cerveau est inconnue. L'article de Kumar et al. suggère que l'exposition prénatale au BPA affecterait l'intégrité synaptique^{*} dans différentes zones du cerveau. Ceci pourrait être impliqué dans l'apparition des troubles anxieux chez les souris adultes. L'article d'Ohtani et al. démontre que l'exposition prénatale au BPF, utilisé comme substitut du BPA, n'est pas non plus sans danger, puisqu'il favorise l'apparition de troubles associés à l'anxiété et à la dépression, comme cela a été observé pour le BPA.

Les comportements anxieux dus à l'exposition périnatale au bisphénol A sont corrélés à la diminution de densité de protéines synaptiques associées à l'excitation au profit de celles associées à l'inhibition dans le cerveau des souris mâles.

Kumar D. et al. (2017). Anxiety like behavior due to perinatal exposure to Bisphenol-A is associated with decrease in excitatory to inhibitory synaptic density of male mouse brain. *Toxicology*, vol.378: p.107-113.

Résumé

L'exposition prénatale à de faibles doses de BPA a des effets néfastes sur le développement cérébral et provoque des effets à long terme sur sa structure et sa fonction (4,5). Cela se traduit notamment par le développement de comportements anxio-dépressifs chez l'Homme (6) et le rongeur (7). Ici, les auteurs étudient les effets d'une exposition périnatale (de sept jours post-conception à 21 jours post-natal) à de faibles doses de BPA (50µg/kg de poids corporel/jour) sur le comportement de souris et sur le rapport entre expression de protéines associées aux synapses^{*} excitatrices et inhibitrices dans deux zones cérébrales impliquées dans l'anxiété : le cortex préfrontal^{*} et le gyrus denté hippocampique^{*}. Dans le test comportemental du champ ouvert^{*}, les souris mâles adultes (huit semaines) exposées au BPA passent moins de temps dans le centre de l'arène et font moins d'entrées dans cette zone que les souris contrôlées. Dans le test du labyrinthe en

croix surélevé^{*}, les souris exposées au BPA passent moins de temps et entrent moins dans le bras ouvert que les souris contrôlées. Ces tests comportementaux confirment que l'exposition périnatale au BPA augmente la réponse face à des stimuli anxiogènes. Les niveaux d'expression de différentes protéines synaptiques ont été analysés par western-blot^{*} et immunohistochimie^{*} dans le cortex cérébral et l'hippocampe^{*} de souris prépubères (trois semaines) et adultes (huit semaines). L'expression de la protéine PSD95, marqueur post-synaptique des synapses excitatrices, est diminuée par le traitement au BPA, dans les deux régions cérébrales des souris pré-pubères et des souris adultes. La synaptophysine, protéine pré-synaptique, dont l'expression corrèle avec la densité synaptique (8), est également diminuée après exposition au BPA à court et plus long terme dans les deux zones cérébrales. En revanche, l'expression de la géphyrine, protéine d'ancrage des récepteurs GABAergiques dans les synapses inhibitrices, est augmentée par le traitement au BPA, dans les deux zones cérébrales, chez les souris pré-pubères et adultes. Le traitement au BPA diminue le ratio de l'expression de la protéine « excitatrice » (PSD95) sur celle de la protéine « inhibitrice » (géphyrine). Cette étude confirme donc que l'exposition périnatale au BPA favorise dans la descendance mâle, des comportements liés à l'anxiété. De plus, le BPA réduirait la densité synaptique et pourrait modifier le rapport entre synapses excitatrices/inhibitrices, dont la dérégulation perturbe la plasticité synaptique^{*}, les fonctions cognitives et la régulation de l'humeur.

Commentaire

Les résultats de cette étude suggèrent que l'exposition prénatale au BPA a des répercussions sur l'expression de protéines impliquées dans le fonctionnement et la plasticité synaptique, dans des zones cérébrales impliquées dans l'anxiété. Ces effets semblent être durables, puisqu'ils sont observés également dans le cerveau de souris adultes, plusieurs semaines après l'arrêt du traitement. Le BPA pourrait donc perturber à long terme la transmission synaptique, et donc la communication neuronale, ce qui pourrait être à l'origine de ses propriétés anxiogènes (9,10). Il est regrettable que les auteurs ne démontrent malheureusement pas de relation de cause à effet entre ces deux phénomènes. De plus, l'originalité de l'étude réside dans les résultats sur les aspects synaptiques qui auraient pu être étayés et confortés par des données complémentaires, structurelles et fonctionnelles. Ces résultats soulèvent toutefois un point important en démontrant les effets perturbateurs durables d'une exposition prénatale au BPA sur l'organisation moléculaire synaptique du cerveau des souris.

Effets néfastes d'une exposition maternelle au bisphénol F sur les comportements associés à l'anxiété et à la dépression de la descendance

Ohtani N. et al. (2017). Adverse effects of maternal exposure to bisphenol F on the anxiety- and depression-like behavior of offspring. *J Vet Med Sci.* vol.79(2): p.432-439

Résumé

De nombreuses études ont démontré qu'en agissant sur les récepteurs aux stéroïdes, le BPA affecterait le développement du cerveau et du système reproducteur chez le fœtus, les bébés et les jeunes enfants. Chez le rongeur, l'exposition prénatale au BPA aurait des répercussions comportementales en favorisant l'apparition de comportements anxieux (6). De ce fait, le BPA n'entre plus dans la fabrication des biberons en France. De nombreux analogues structuraux au BPA sont actuellement utilisés : bisphénol B, F, S ou AF. En particulier, le BPF est très largement utilisé bien que certaines études rapportent son activité estrogénique* (11). De plus, son passage de la barrière placentaire a été démontré chez le rongeur et indique qu'il pourrait atteindre le fœtus. Les effets de l'exposition prénatale au BPF sur le comportement sont encore méconnus. Dans cette étude, les auteurs ont quotidiennement administré oralement à des souris femelles des doses modérées de BPA ou BPF (10mg/kg de poids corporel/jour) pendant la seconde moitié de leur gestation (de 11,5 à 18,5 jours post-conception). Ils ont ensuite évalué les comportements associés à l'anxiété et à la dépression de la descendance adulte (10 semaines). Dans le test du champ-ouvert, les souris femelles exposées *in utero* au BPA et au BPF passent significativement moins de temps dans le centre de l'arène que les souris contrôlées. Dans le test du labyrinthe en croix surélevé, les souris femelles exposées au BPF entrent moins souvent et passent moins de temps dans le bras ouvert (anxiogène). Les souris

mâles exposées au BPF passent, eux-aussi, moins de temps dans le bras ouvert. Globalement, ces résultats indiquent que l'exposition prénatale au BPF induit des comportements anxieux dans la descendance adulte, en particulier chez les femelles. Dans le test de la nage forcée, le BPF augmente le taux d'immobilité des femelles, alors que le BPA ne le modifie pas, indiquant que le BPF augmente la résignation des animaux, associée aux comportements dépressifs. De manière intéressante, cette étude suggère que l'exposition prénatale au BPF aurait des effets comportementaux dépendants du sexe, les souris femelles développant plus de comportements associés à l'anxiété et à la résignation. Les mécanismes d'action du BPF, qui pourraient concerner l'équilibre hormonal ou les systèmes de neurotransmission, restent encore à déterminer.

Commentaire

Bien qu'uniquement descriptive, cette étude possède l'intérêt de démontrer que l'exposition prénatale à des doses modérées de BPF, utilisé comme substitut du BPA en tant que "révélateur" dans les papiers thermiques (tickets de caisse), produit des effets néfastes sur le comportement de jeunes souris en favorisant l'apparition de comportements anxio-dépressifs. De manière intéressante, les effets du BPF se révèlent supérieurs, à dose équivalente, à ceux du BPA, perturbateur endocrinien reconnu. Il semblerait également que ces effets soient dépendants du sexe, les femelles étant plus touchées que les mâles. Bien que dans cette étude aucun mécanisme ne soit mis en évidence pour expliquer les conséquences de l'exposition au BPF, ce n'est pas la première alerte concernant l'absence d'innocuité du BPF, puisque plusieurs études ont déjà rapporté, y compris sur des cellules testiculaires fœtales humaines (12), le potentiel estrogénique du BPF.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Du fait des nombreuses études démontrant la dangerosité du BPA, son utilisation dans tous les conditionnements en contact direct avec les denrées alimentaires (canettes, boîtes de conserve et couvercles métalliques) est interdite en Europe depuis 2015. Cependant, l'Homme reste exposé à de faibles doses de BPA par le biais de nombreux objets de la vie quotidienne toujours en circulation. La première étude présentée ici s'intéresse aux conséquences cérébrales d'une exposition périnatale à de faibles doses de BPA chez les souris jeunes et adultes. Les résultats confirment les données préexistantes sur les effets anxiogènes du BPA chez les souris. Ils suggèrent aussi que le BPA aurait des effets perturbateurs à long terme sur les niveaux d'expression de plusieurs protéines synaptiques dans différentes zones cérébrales. Il pourrait s'agir d'un des mécanismes par lequel le BPA influencerait sur les fonctions cognitives. La seconde étude compare les effets d'une exposition prénatale à des doses modérées de BPA ou de son analogue structural, le BPF, sur les comportements liés à l'anxiété de souris adultes. Dans ce contexte et à dose équivalente, les effets délétères du BPF se révèlent plus importants que ceux du BPA. Ces résultats s'ajoutent donc aux quelques études récentes menées sur les substituts du BPA dont la dangerosité n'a encore que très peu été mise en évidence chez l'Homme et autres mammifères. Il n'y a actuellement aucune réglementation les concernant.

GENERAL CONCLUSION

Due to the numerous studies demonstrating the dangerousness of BPA, its use in Europe has been banned since 2015. However, human beings remain exposed to low doses of BPA through many objects of daily life which are still in circulation. The first study presented here focuses on the cerebral consequences of perinatal exposure to low doses of BPA in young and adult mice. The results confirm the preexisting data on the anxiogenic effects of BPA on mice. In addition, they suggest that BPA would have long-term disruptive effects on the levels of expression of several synaptic proteins in different brain areas. This could be one of the mechanisms by which BPA may affect cognitive functions. The second study compared the effects of perinatal exposure to moderate doses of BPA or its analog BPF on adult mouse anxiety-related behaviors. In this context and at an equivalent dose, the deleterious effects of BPF are greater than those of BPA itself. These results are in line with the few recent studies on BPA substitutes, the risk of which has not yet been evaluated for humans and other mammals. There are currently no regulations concerning them.

Lexique

Cortex préfrontal : Zone du cerveau impliquée dans les réponses émotionnelles et ayant de nombreuses connexions avec d'autres régions du cerveau responsables du contrôle de la dopamine, de la noradrénaline et de la sérotonine, trois neurotransmetteurs importants pour la régulation de l'humeur. La sévérité de la dépression est corrélée au degré de la baisse d'activité du cortex préfrontal.

Hippocampe : Zone du cerveau localisée dans le lobe temporal, impliquée dans la mémoire et le repérage dans l'espace mais aussi dans la régulation de l'humeur et en particulier l'anxiété. Il comprend 3 zones : le subiculum, la corne d'Ammon (aires CA1, CA2 et CA3) et le gyrus denté.

Immunohistochimie : Méthode de localisation et quantification de protéines dans une coupe de tissu grâce à des anticorps spécifiques.

Perturbateur endocrinien : Molécule qui mime, inhibe ou modifie l'action d'une hormone et perturbe le fonctionnement normal d'un organisme.

Plasticité synaptique : Correspond aux modifications morphologiques, chimiques et fonctionnelles qui interviennent au niveau de la synapse. La plasticité synaptique serait à la base des processus d'apprentissage et de mémorisation.

Synapse : Zone fonctionnelle de transformation de l'influx nerveux entre un neurone et une cellule réceptrice. Les synapses chimiques sont de deux sortes : excitatrices lorsqu'elles amplifient le signal électrique, inhibitrices lorsqu'elles le réduisent. Une synapse chimique est composée de deux éléments fondamentaux : l'axone d'un neurone présynaptique, où se trouvent des vésicules contenant des neurotransmetteurs excitateurs (comme le glutamate) ou inhibiteurs (le GABA), et la région réceptrice d'un neurone postsynaptique. Cette région peut être une dendrite, un axone, ou bien un corps cellulaire, sur laquelle sont disposés des récepteurs spécifiques réagissant au neurotransmetteur.

Test du champ ouvert (open-field) : Test comportemental permettant d'estimer le comportement exploratoire et l'activité générale chez les rongeurs. L'animal est placé dans une enceinte, généralement carrée, rectangulaire ou de forme circulaire avec des murs qui empêchent toute évasion. La distance parcourue, le temps passé en mouvement, les redressements et le changement de l'activité au fil du temps sont observées. Certains résultats, en particulier la défécation, le temps passé au centre de l'enceinte et l'activité exploratoire dans les cinq premières minutes du test servent également à estimer certains aspects de l'émotivité, y compris l'anxiété. Un objet peut aussi être placé au centre de l'enceinte afin de fournir à l'animal la possibilité d'explorer un nouvel objet dans un contexte environnemental familier.

Test du labyrinthe en croix surélevé (elevated plus maze) : Test comportemental permettant de mesurer la peur et l'anxiété. Le test est fondé sur la préférence de l'animal pour les endroits sombres et clos, comparativement aux endroits éclairés et découverts. Le dispositif comprend deux bras étroits et longs se croisant perpendiculairement, l'un est découvert, l'autre recouvert. La souris est placée au point de croisement des bras. Le temps passé dans chaque

bras est comptabilisé ainsi que le nombre de tentatives d'entrées dans le bras découvert. Ce labyrinthe s'avère particulièrement utile pour vérifier les effets des médicaments anxiolytiques et anxiogènes.

Western-blot : Technique de biologie moléculaire permettant de détecter et quantifier sur membrane de protéines grâce à des anticorps spécifiques.

Publications de référence

1 Krishnan AV, Stathis P, Permuth SF, et al. Bisphenol-A: an estrogenic substance is released from polycarbonate flasks during autoclaving. *Endocrinology* 1993;132:2279-86.

2 Calafat AM, Ye X, Wong LY, et al. Exposure of the U.S. population to bisphenol A and 4-tertiary-octylphenol: 2003-2004. *Environ Health Perspect* 2008;116:39-44.

3 Schonfelder G, Wittfoht W, Hopp H, et al. Parent bisphenol A accumulation in the human maternal-fetal-placental unit. *Environ Health Perspect* 2002;110:A703-7.

4 Cox KH, Gatewood JD, Howeth C, et al. Gestational exposure to bisphenol A and cross-fostering affect behaviors in juvenile mice. *Horm Behav* 2010;58:754-61.

5 Kubo K, Arai O, Omura M, et al. Low dose effects of bisphenol A on sexual differentiation of the brain and behavior in rats. *Neurosci Res* 2003;45:345-56.

6 Harley KG, Gunier RB, Kogut K et al. Prenatal and early childhood bisphenol A concentrations and behavior in school-aged children. *Environ Res* 2013;126:43-50.

7 Cox KH, Gatewood JD, Howeth C, et al. Gestational exposure to bisphenol A and cross-fostering affect behaviors in juvenile mice. *Horm Behav* 2010;58:754-61.

8 Tian YH, Baek JH, Lee SY, et al. Prenatal and postnatal exposure to bisphenol a induces anxiolytic behaviors and cognitive deficits in mice. *Synapse* 2010;64:432-9.

9 Liao C, Liu F, Guo Y, et al. Occurrence of eight bisphenol analogues in indoor dust from the United States and several Asian countries: implications for human exposure. *Environ Sci Technol* 2012;46:9138-45.

10 Tarsa L, Goda Y. Synaptophysin regulates activity-dependent synapse formation in cultured hippocampal neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:1012-6.

11 Bishop S, Duncan J, Brett M, et al. Prefrontal cortical function and anxiety: controlling attention to threat-related stimuli. *Nat Neurosci* 2004;7:184-8.

12 Eladak S, Grisin T, Moison D, et al. A new chapter in the bisphenol A story: bisphenol S and bisphenol F are not safe alternatives to this compound. *Fertil Steril* 2015;103:11-21.

Revue de la littérature

Bannerman DM, Sprengel R, Sanderson DJ, et al. Hippocampal synaptic plasticity, spatial memory and anxiety. *Nat Rev Neurosci* 2014;15:181-92.

Rochester JR, Bolden AL. Bisphenol S and F: A Systematic Review and Comparison of the Hormonal Activity of Bisphenol A Substitutes. *Environ Health Perspect* 2015.

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.