

Université de Montréal

Contribution à l'évaluation de la toxicocinétique humaine du bisphénol S

Par Imèn Khmiri

Département de Santé environnementale et santé au travail

École de Santé publique

Mémoire présenté

En vue de l'obtention du grade de

Maîtrise en Santé environnementale et santé au travail

Option générale

Octobre 2020

© Imèn Khmiri, 2020

Université de Montréal

École de santé publique : département de santé environnementale et santé au travail

Ce mémoire intitulé

Contribution à l'évaluation de la toxicocinétique humaine du bisphénol S

Présenté par

Imèn Khmiri

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Claude Emond

Président-rapporteur

Michèle Bouchard

Directeur de recherche

Aurélie Berthet

Membre du jury

Résumé

La mesure du bisphénol-S (BPS) et de son glucurono-conjugué (BPSG) dans l'urine peut être utilisée pour la biosurveillance de l'exposition dans les populations. Cependant, cela nécessite une connaissance approfondie de la toxicocinétique de ces composés alors qu'à ce jour, il existe peu de données à cet effet chez l'humain. L'évolution dans le temps du BPS et du BPSG a été évaluée dans des matrices biologiques accessibles et représentatives comme l'urine et le sang de volontaires exposés par voie orale et cutanée. Suite à l'approbation du comité d'éthique de la recherche de l'Université de Montréal, six volontaires ont été exposés par voie orale à une dose deutérée de BPS-d8 de 0,1 mg/kg de poids corporel. Un mois plus tard, 1 mg/kg pc de BPS-d8 ont été appliqués sur 40 cm² de l'avant-bras puis lavés 6 h après l'application. Des échantillons de sang ont été prélevés avant le dosage et à des intervalles de temps fixes sur une période de 48 h après traitement; des collectes urinaires complètes ont été recueillies avant l'exposition et à des intervalles préétablis sur 72 h après dosage.

Après exposition par voie orale, les profils temporels des concentrations plasmatiques de BPS-d8 et de BPSG-d8 évoluaient en parallèle et ont montré une apparition et une élimination rapides. Les valeurs maximales de BPS-d8 et BPSG-d8 dans le plasma ont été atteintes en moyenne (\pm écart-type [ET]) à $0,7 \pm 0,1$ et $1,1 \pm 0,4$ h après le dosage et les demi-vies d'élimination apparentes (moyenne \pm ET) ($t_{1/2}$) de $7,9 \pm 1,1$ et $9,3 \pm 7,0$ h ont été calculées à partir de la phase terminale, respectivement. La fraction de BPS-d8 atteignant la circulation systémique inchangée (c'est-à-dire la biodisponibilité) a en outre été estimée à 62 ± 5 % en moyenne (\pm ET) et la clairance plasmatique systémique à $0,57 \pm 0,07$ L/kg pc/h. Toujours après exposition orale, les profils temporels des taux d'excrétion urinaire évoluaient aussi de manière parallèle aux concentrations plasmatiques et étaient similaires pour tant pour le composé parent que le métabolite. Le pourcentage moyen (\pm ET) de la dose administrée récupérée dans l'urine sous forme de BPS-d8 et BPSG-d8 au cours de la période de 72 h après le dosage était de $1,72 \pm 1,3$ et 54 ± 10 %.

Après application cutanée, les niveaux plasmatiques étaient inférieurs à la limite inférieure de quantification (LLOQ) à la plupart des points dans le temps. Cependant, les valeurs maximales étaient atteintes entre 5 et 8 h selon les individus, suggérant un taux d'absorption plus

lent par rapport à l'exposition orale. De même, des quantités limitées de BPS-d8 et de son conjugué, estimées en pourcentage de dose, de l'ordre $0,004 \pm 0,003$ et $0,09 \pm 0,07$ %.

En somme, cette étude a fourni une plus grande précision sur la cinétique du BPS chez l'humain. Ces données seront utiles pour développer un modèle toxicocinétique pour une meilleure interprétation des données de biosurveillance. Pour la voie orale, le taux d'absorption apparent similaire du BPS-d8 et BPSG-d8 après une exposition par voie orale suggère que les formes libres et conjuguées du BPS atteignent la circulation sanguine systémique à peu près dans le même intervalle de temps. Ceci indique un effet de premier passage hépatique, c'est-à-dire une conjugaison du BPS-d8 dans le foie avant d'atteindre la circulation systémique. Néanmoins, malgré l'effet de premier passage, la biodisponibilité du BPS-d8 et donc la forme active non conjuguée du BPS dans le sang est relativement élevée. Celle-ci est en fait largement plus importante que celle du BPA. Le BPS libre s'est aussi avéré avoir un temps de résidence plasmatique plus long que le BPA. Pour la voie cutanée, les données ont montré que le BPS atteignait rapidement la circulation sanguine systémique et était donc rapidement absorbé par la peau. Par contre, son élimination du corps semble être plus lente après exposition cutanée comparativement à son élimination après exposition orale. Par ailleurs, malgré le fait que le BPS serait rapidement absorbé au niveau de la peau, la fraction d'absorption cutanée était très faible par rapport à la fraction d'absorption orale.

Mots-clés : BPS ; BPSG ; biomarqueurs d'exposition ; exposition orale ; exposition cutanée.

Abstract

The measurement of bisphenol-S (BPS) and its glucurono-conjugate (BPSG) in urine may be used for the biomonitoring of exposure in populations. However, this requires a thorough knowledge of their toxicokinetics. The time courses of BPS and BPSG were assessed in accessible biological matrices of orally and dermally exposed volunteers. Under the approval of the Research Ethics Committee of the University of Montreal, six volunteers were orally exposed to a BPS-d8 deuterated dose of 0.1 mg/kg body weight (bw). One month later, 1 mg/kg bw of BPS-d8 were applied on 40 cm² of the forearm and then washed 6 h after application. Blood samples were taken prior to dosing and at fixed time periods over 48 h after treatment; complete urine voids were collected pre-exposure and at pre-established intervals over 72 h postdosing.

Following oral exposure, the plasma concentration–time courses of BPS-d8 and BPSG-d8 over 48 h evolved in parallel and showed a rapid appearance and elimination. Average peak values (\pm SD) were reached at 0.7 ± 0.1 and 1.1 ± 0.4 h postdosing and mean (\pm SD) apparent elimination half-lives ($t_{1/2}$) of 7.9 ± 1.1 and 9.3 ± 7.0 h were calculated from the terminal phase of BPS-d8 and BPSG-d8 in plasma, respectively. The fraction of BPS-d8 reaching the systemic circulation unchanged (i.e. bioavailability) was further estimated at $62 \pm 5\%$ on average (\pm SD) and the systemic plasma clearance at 0.57 ± 0.07 L/kg bw/h. Plasma concentration–time courses and urinary excretion rate profiles roughly evolved in parallel for both substances, as expected. The average percent (\pm SD) of the administered dose recovered in urine as BPS-d8 and BPSG-d8 over the 0–72 h period postdosing was 1.72 ± 1.3 and $54 \pm 10\%$.

Following dermal application, plasma levels were under the lower limit of quantification (LLOQ) at most time points. However, peak values were reached between 5 and 8 h depending on individuals, suggesting a slower absorption rate compared to oral exposure. Similarly, limited amounts of BPS-d8 and its conjugate were recovered in urine and peak excretion rates were reached between 5 and 11 h postdosing. The average percent (\pm SD) of the administered dose recovered in urine as BPS-d8 and BPSG-d8 was about 0.004 ± 0.003 and $0.09 \pm 0.07\%$, respectively.

This study provided greater precision on the kinetics of this contaminant in humans and, in particular, evidenced major differences between BPA and BPS kinetics with much higher systemic levels of active BPS than BPA, an observation explained by a higher oral bioavailability of BPS than BPA. These data should also be useful in developing a toxicokinetic model for a better interpretation of biomonitoring data.

Overall, this study provided greater precision on the kinetics of this contaminant in humans. These data will be useful in developing a toxicokinetic model for a better interpretation of biomonitoring data. For the oral route of exposure, the apparent similar absorption rate of BPS-d8 and BPSG-d8 after oral exposure suggests that free and conjugated forms of BPS reach the systemic blood circulation at about the same time interval. This indicates a first-pass effect in the liver, *i.e.* a conjugation of BPS-d8 in the liver before reaching the systemic circulation. Nevertheless, despite the first-pass effect, the bioavailability of BPS-d8 and therefore the proportion of unconjugated active form of BPS reaching the systemic bloodstream is relatively high. It is actually much higher than that of BPA. Free BPS was also found to have a longer plasma residence time than BPA. For the dermal route of exposure, data show that BPS quickly reaches systemic blood circulation and is therefore rapidly absorbed by skin. On the other hand, its elimination from the body appears to be slower after dermal exposure compared to its elimination after oral exposure. Furthermore, despite the fact that BPS is rapidly absorbed through the skin, the dermal absorption fraction was very small compared to the oral absorption fraction.

Keywords: BPS; BPSG; biomarkers of exposure; oral exposure; cutaneous exposure.

Contribution de l'étudiante

Ma contribution a été active à toutes les étapes de l'étude, soit au départ une participation à la rédaction de toute la documentation nécessaire à l'approbation du comité éthique de la santé de l'Université de Montréal, ainsi qu'une participation aux ateliers de réflexion avec un travail de recherche du protocole, avec une revue de la littérature en exploitant les bases de données de l'Université de Montréal ainsi que les catalogues électroniques tels que Pub Med, google scholar.

En outre, j'ai contribué à une coordination avec toutes les parties prenantes de l'étude clinique afin d'assurer son bon déroulement à savoir :

- les formalités de recrutement des participants, la participation aux séances de sensibilisation et la présentation du plan de déroulement de l'étude aux participants ;
- l'enregistrement des prélèvements en temps réel fixé par le protocole ;
- le suivi de l'état sanitaire des participants exposés pour détecter les effets secondaires qui peuvent résulter de l'exposition aux BPS ;
- la contribution avec l'équipe à l'analyse de toutes les données recueillies et une interprétation des résultats qui ont mené par la rédaction de l'article inscrit dans ce mémoire.

Table des matières

Résumé	5
Abstract	7
Table des matières	11
Liste des tableaux	15
Liste des sigles et abréviations	17
Remerciements	19
1 Introduction	21
1.1 Le Bisphénol S : historique et propriétés.....	25
1. Chronologie du BPS : substitution du BPA par son analogue	25
2. Propriétés physicochimiques	26
3. Production et utilisation du BPS	28
4. Législation du BPS.....	28
1.2 Exposition externe	29
5. Exposition alimentaire.....	30
6. Exposition cutanée	31
7. Exposition par inhalation	32
1.3 Expositions humaines au bisphénol S : données de biosurveillance	32
1.4 Toxicité du BPS.....	34
8. Effet endocrinien	34
9. Effet reprotoxique	35
10. Effet obésogène	36
11. Inhibition des effets de médicaments	37
12. Stress oxydatif inflammatoire	38
13. Passage materno — fœto-placentaire et effets fœto-toxiques.....	39
1.5 Toxicocinétique du BPS	40
14. Absorption.....	41
15. Distribution.....	43
16. Biotransformation [métabolisme]	43
17. Excrétion, détoxification	45
2 Problématique et objectifs	46
3 Méthodes	47

3.1	Description de l'étude clinique.....	47
3.2	Recrutement et méthodes d'exposition.....	47
3.3	Prélèvement de sang et d'urine.....	49
3.4	Traitement et analyses des échantillons.....	51
18.	Préparation de la dose d'exposition	51
19.	Traitement des échantillons plasmatiques et urinaires	51
3.5	Analyses toxicocinétiques	53
3.6	Considérations éthiques	54
4	Article.....	57
4.1	Abstract.....	58
4.2	Introduction	60
4.3	Materials and methods.....	62
20.	Study design and ethics approval	62
21.	Volunteers and dosing.....	63
22.	Blood and urine sampling	64
23.	Treatment of samples and analysis.....	65
24.	Toxicokinetic analysis.....	67
4.4	Results	69
25.	Time courses of BPS-d8 and BPSG-d8 in plasma after oral administration	69
26.	Time courses of BPS-d8 and BPSG-d8 in urine after oral administration.....	69
27.	Time courses of BPS-d8 and BPSG-d8 in plasma after cutaneous application	70
28.	Time courses of BPS-d8 and BPSG-d8 in urine after cutaneous application	70
4.5	Discussion.....	72
29.	Toxicokinetics of BPS in humans after oral exposure	72
30.	Comparison of BPS and BPA toxicokinetics in humans after oral exposure	74
31.	Toxicokinetics of BPS after dermal exposure and comparison with BPA	75
32.	Interest of the toxicokinetic data for the purpose of biomonitoring.....	78
4.6	Conclusions	78
4.7	Conflict of interest statement.....	80
4.8	Acknowledgements	80
4.9	Funding.....	80
4.10	Annexe.....	81
4.11	Captions to figures.....	82
5	Discussion générale.....	97

5.1	Retour sur les principaux résultats et comparaison avec les études déjà existantes.....	97
33.	Exposition orale.....	97
34.	Exposition cutanée	99
5.2	Conclusions, avantages et limites de l'étude et perspectives de recherche	102
6	Références	103

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les propriétés physicochimiques du bisphénol S et de Bisphénol A.....	27
---	----

Liste des sigles et abréviations

AUC : Aire sous la courbe

AUMC : aire sous la courbe du premier moment

BPA : bisphénol A

BPAF : bisphénol AF

BPAG : bisphénol A conjugué à l'acide glucuronide

BPAP : bisphénol P

BPB : bisphénol B

BPF : bisphénol F

BPS : bisphénol S

BPSG : bisphénol S conjugué à l'acide glucuronide

BPZ : bisphénol Z

C : concentration

CERC : le comité d'éthique de la Recherche clinique

CL : Clairance

DJA : la dose journalière acceptable

DMSO : diméthylsulfoxyde

DSENO : dose sans effet néfaste observé

EFSA : Autorité européenne de sécurité des aliments

ER α : récepteur œstrogénique alpha

Er β : récepteur œstrogénique bêta

k_{abs} : Constante d'absorption

k_{elim} : Constante d'élimination

LLOQ : Lower limit of quantification

LMS : limite de migration spécifique

LOAEL : Lowest-observed-adverse-effect level

MG : moyenne géométrique

MRT : Temps de résidence moyen

NHANES : National Health and Nutrition Examination Survey

OECD : Organization for Economic Co-operation and Development

TCS: Triclosan

T_{max} : Temps pour atteindre la concentration maximale

TAG : Triacylglycérides

U.S. EPA : United States Environmental Protection Agency

UF_A : facteur d'incertitude inter espèces

UF_H : facteur d'incertitude interindividuelle

UGT : UDP-glucuronosyltransférases

V_d : volume de distribution

Remerciements

Je finis ce mémoire, fière de toutes ces compétences et connaissances acquises, motivée et inspirée par de nouveaux défis. Je tiens pour cela à remercier tous ceux qui ont contribué à l'atteinte de ces objectifs.

Je tiens en premier lieu à exprimer toute ma reconnaissance et gratitude à ma directrice académique de recherche, Michèle Bouchard, pour m'avoir accueillie dans son laboratoire, pour sa patience, sa confiance, sa disponibilité, sa compréhension, la qualité de son encadrement tout au long de mon cursus de maîtrise. Elle m'a permis de participer à des congrès et de découvrir de nouveaux centres d'intérêt.

Un grand merci à toute l'équipe de recherche, Jonathan Côté, Marc Mantha et Rania khmiri, qui m'ont aidé à atteindre ce niveau.

Je voudrais rendre hommage à mes parents et mes sœurs qui ont toujours été présents pour moi. Ils m'ont toujours soutenu encouragé et aider tout au long de cette maîtrise.

Je remercie finalement toute ma grande famille, mes collègues, mes amis, et à tous ceux qui m'ont apporté leur soutien et encouragement au cours de cette aventure.

1 Introduction

Le bisphénol S, bis (4-hydroxyphényl) sulfone (BPS) est une substance synthétisée à partir de la sulfonation de phénols (Johannes 2014). Il est omniprésent dans l'environnement (Liao et al. 2012a). Le BPS a été synthétisé pour la première fois en 1869 et a commencé à être utilisé comme substitut de son analogue, le bisphénol A (BPA) dans les années 2000 (Glausiusz 2014). Le BPS a une utilisation commerciale largement répandue. Il est utilisé comme intermédiaire dans la production de résines époxy et plastiques polycarbonates, de sorte qu'il est présent dans divers produits industriels (produits de nettoyage, par exemple), produits de consommation alimentaires (viandes, produits laitiers) et dans les soins personnels (produits pour le corps et les cheveux, par exemple) (Viñas et al. 2010). Il est également utilisé comme révélateur dans les papiers thermiques (tickets), offrant des propriétés thermosensibles (ANSES 2013). La population générale peut donc être exposée par l'ingestion d'aliments contaminés, mais également par contact cutané (Wu et al. 2018).

Étant donné que son analogue de BPA s'est avéré avoir des propriétés de perturbation du système endocrinien, certains auteurs ont également évalué le potentiel estrogénique du BPS *in vitro* et *in vivo* chez les animaux (Chen et al. 2016; Rochester et Bolden 2015; Viñas et al. 2010). Comme observé pour le BPA, les études suggèrent que le BPS est hormonalement actif, montrant des activités estrogéniques chez le rat *in vivo*, ainsi qu'un potentiel estrogénique et anti-androgéniques *in vitro*. Selon Kojima et al. (2019), le BPS a montré une activité agoniste des récepteurs des œstrogènes humains (ER α et ER β) du même ordre de grandeur que le BPA (Kojima et al. 2019). Dans une étude *in vivo* chez des rats femelles, Ahsan et al. (2018) ont également montré que le BPS altérait le cycle de l'œstrus ainsi que la fonction et le développement de l'ovaire.

Selon les études sur le métabolisme chez l'animal, le BPS est rapidement conjugué aux glucuronides une fois absorbé dans l'organisme, à l'instar de son analogue du BPA. La fraction libre de BPS est considérée la fraction active, alors que le produit de détoxification BPS-glucuronide (BPSG) est le principal composé excrété dans l'urine (Grandin et al. 2018). Chez l'Homme, la littérature sur l'exposition au BPS dans la population générale est de plus en plus nombreuse, comme l'indiquent les mesures du BPS et du BPSG dans des matrices biologiques.

Ces matrices biologiques sont en quelque sorte des parties du corps constituant une sauvegarde de l'historique d'exposition et qui sont faciles à prélever et sains à manipuler sur le plan éthique.

L'étude de Liao et al. (2012a) a été la première à rapporter les niveaux de BPS dans la population générale ; les auteurs ont montré que le BPS total (la somme des formes libre et conjuguée du BPS) était détectable dans 81 % des échantillons d'urine ponctuels (n = 315) prélevés chez des Américains et des Asiatiques (Chinois, Indiens, Japonais, Coréens, Koweïtiens, Malaisiens et Vietnamiens) âgés de 2 à 84 ans, avec des concentrations moyennes géométriques de 0,168 µg/L (étendue de la limite de quantification de 0,02 à 21 µg/L). Liu et al. (2017) ont également mesuré le BPS total dans 61 échantillons de sang maternel et de sang de cordon appariés provenant de la population chinoise. Bien que le BPS total n'ait pu être détecté que dans quatre échantillons de sang maternel et sept échantillons de sang de cordon, dans une plage de <0,03 à 0,07 µg/L, cette étude a montré que le BPS peut traverser le placenta humain. Plus récemment, Ndaw et al. (2018) ont mesuré le BPS total dans des échantillons d'urine avant et après le quart de travail et la première matinée, chez 17 caissiers français et 15 témoins ; ils ont constaté que les valeurs de concentrations étaient nettement plus élevées chez les caissiers que chez les témoins (moyenne géométrique [fourchette] de 2,48 [0,1 à 28,4 µg/L] par rapport à 0,72 µg/L [$<LOQ$ de 0,1 à 229 µg/L]).

Lehmer et al. (2018) ont analysé les concentrations de BPS total dans des échantillons ponctuels d'urine d'enfants (n = 868) et d'adultes (n = 1808) participant à l'Enquête nationale sur la santé et la nutrition (NHANES) 2013-2014 ; le BPS total a été détecté dans 89,4 % des cas, avec une concentration médiane de 0,37 µg/L chez l'adulte (interquartile de 0,14 à 0,88 µg/L) et de 0,29 (0,12 à 0,70) µg/L chez l'enfant.

Dans une cohorte prospective de femmes néerlandaises inscrites en début de grossesse (n = 1396), (Philips et al. 2018) ont signalé un taux de détection de BPS total de 67,8 % dans les échantillons ponctuels d'urine prélevés en 2004-2005 et des concentrations médianes de 0,36 µg/L (interquartile de 0,17 à 1,08 µg/L), ce qui est similaire aux résultats obtenus chez les participants de l'enquête NHANES. D'autres chercheurs (Ghayda et al. 2019; Radwan et al. 2018) ont également documenté des concentrations de BPS total dans le sperme et dans l'urine de 158 hommes inscrits dans une cohorte prospective du Massachusetts (États-Unis) recherchant un traitement de fertilité de 2011 à 2017, et ont signalé un taux de détection de 76 % ($> 0,1$ µg/L)

sur 338 échantillons d'urine, une moyenne géométrique de 0,37 µg/L et un intervalle interquartile de 0,2 à 0,9 µg/L.

Pour pouvoir interpréter les données de biosurveillance, il est important de disposer d'informations sur la toxicocinétique des biomarqueurs d'exposition les plus représentatifs pour quantifier. Bien que la toxicocinétique du BPA, analogue au BPS, ait été largement documentée chez l'Homme (Fisher et al. 2011; Teeguarden et al. 2015; Thayer et al. 2015), celle du BPS demeure peu documentée à ce jour. Les études animales montrent qu'après absorption, le BPS est rapidement conjugué en BPS glucuronide et excrété principalement dans l'urine (Figure 1).

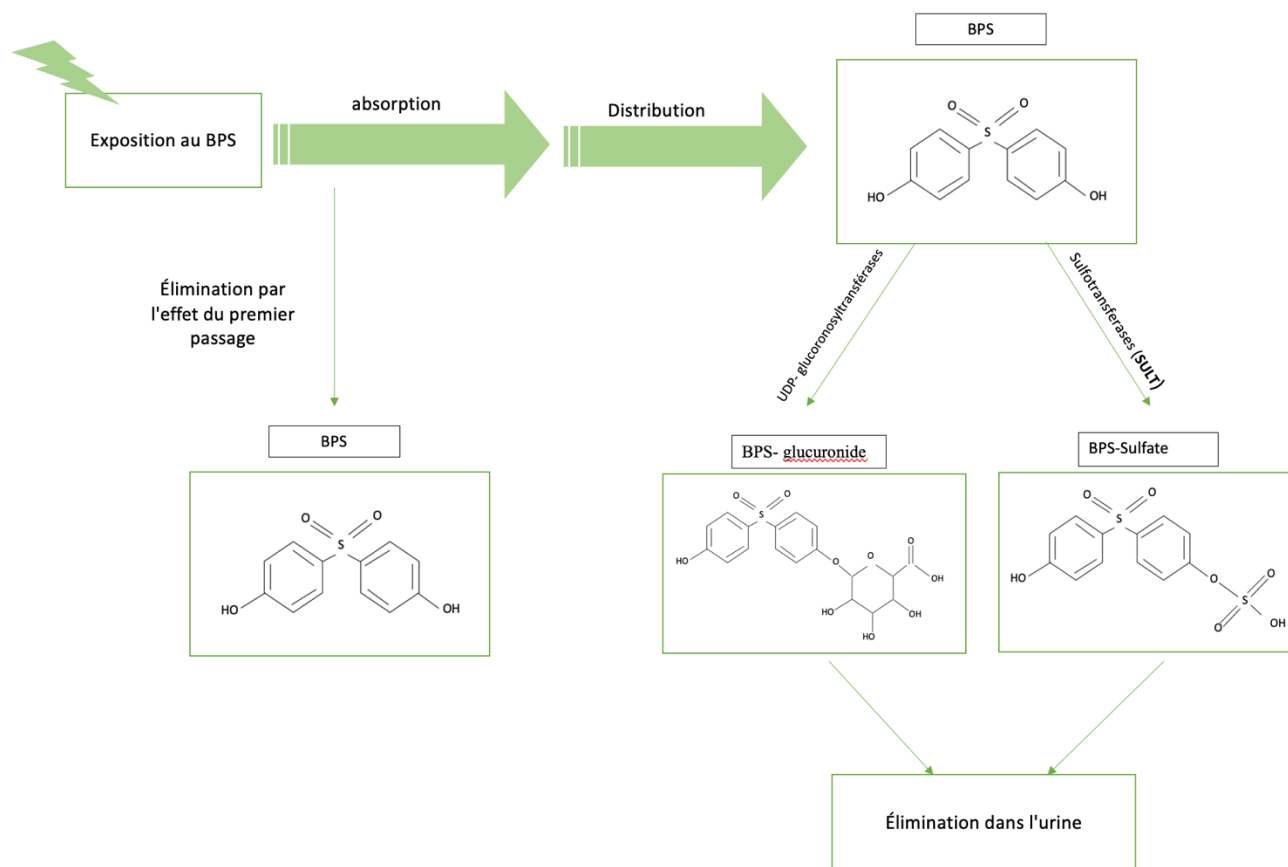


Figure 1: Biotransformation du bisphénol S en BPS-glucuronide et BPS-sulfate (Gayrard et al. 2019b)

Une seule étude toxicocinétique humaine du BPS a été réalisée au moment du début du projet (Oh et al. 2018). La détermination de la toxicocinétique du BPS et du BPSG directement chez l'Homme est importante compte tenu des différences potentielles de cinétique entre l'animal et l'humain. Oh et al. (2018) ont documenté l'évolution temporelle du BPS (BPS libre et total) dans le plasma et l'urine de sept hommes et femmes de volontaires coréens vivant à Séoul exposés oralement à 8,75 µg de BPS-d4/kg de poids corporel, dissout dans de l'éthanol et déposé sur un biscuit. Dans cette étude, le BPSG n'a pas été mesuré directement ; il a plutôt été estimé par la différence entre le BPS non conjugué analysé sans hydrolyse enzymatique et le BPS total, soit la somme du BPS non conjugué et conjugué aux glucuronides mesuré après hydrolyse enzymatique avec la β -glucuronidase. À partir de ces données notamment, Karrer et al. (2018) ont utilisé un modèle pharmacocinétique à base physiologique pour le BPA et l'ont extrapolé à ses analogues, y compris le BPS, en i) déterminant les coefficients de partage propres à la substance (tissu à sérum) avec une approche relation quantitative structure-activité (RQSA) et ii) paramètres du métabolisme avec une évaluation *in vitro* de la glucurono-conjugaison de BPS dans le foie humain et les microsomes intestinaux. Le modèle a ensuite été calibré avec les données de Oh et al. (2018). Certaines modifications du modèle ont dû être apportées pour obtenir un bon ajustement aux données cinétiques humaines disponibles (Karrer et al. 2018)

L'objectif de ce travail était de mener une étude clinique pour comparer, dans un même cadre expérimental, les profils cinétiques du BPS non conjugué et de son métabolite majeur le BPSG spécifiquement quantifié chez des femmes volontaires en âge de procréer exposées par voie orale et cutanée à un BPS deutéré (BPS-d8) dans des conditions contrôlées. Cette étude visait également à fournir des données cinétiques de base pouvant servir à développer un modèle de toxicocinétique chez l'Homme permettant la reconstruction des doses absorbées à partir de mesures spécifiques de BPS et de BPSG chez des populations vulnérables, telles que les femmes enceintes.

1.1 Le Bisphénol S : historique et propriétés

1. Chronologie du BPS : substitution du BPA par son analogue

L'exposition humaine aux contaminants environnementaux est l'une des préoccupations majeures des intervenants en santé publique. Ceci concerne en particulier les perturbateurs endocriniens, comme le bisphénol A (BPA), qui a été utilisé depuis 1950 partout dans le monde et d'une façon abondante dans tous les domaines de fabrication des emballages alimentaires et des papiers thermiques grâce à son pouvoir anticorrosif. Cependant, ses méfaits sur le système nerveux, reproductif et hormonal (perturbateur endocrinien) font l'objet de nombreuses recherches (Glausiusz 2014), ce qui a poussé plusieurs chercheurs et organismes à mettre l'accent sur l'utilisation abusive de cette substance. En octobre 2008, les organismes gouvernementaux du Canada, à savoir Environnement Canada et Santé Canada, ont inscrit le BPA dans la liste des produits toxiques bannis au Canada, à la suite d'une évaluation systématique des risques associés à l'utilisation de cette substance. Ils ont alors mis en place des lois qui interdisent toute utilisation de BPA dans les emballages (Environnement Canada et Santé Canada 2008). Cependant, la prise de cette décision a été appuyée et défendue par des études scientifiques qui ont confirmé les effets toxiques probables de ce contaminant à court comme à long terme. À la suite de cette décision, les industriels ont anticipé la mise en application de la loi en janvier 2015 et ont progressivement remplacé le BPA par des analogues structuraux ayant des propriétés techniques similaires, principalement le bisphénol S (BPS, 4,4'-sulfonyldiphenol) ayant maintenant de nombreuses applications, alors que l'utilisation de cette substance n'est pas encore réglementée (Environnement Canada et Santé Canada 2008; Glausiusz 2014),

La France avait une approche différente de celle des autres pays ; elle a interdit l'incorporation du BPA, en un premier temps, dans les biberons et les produits destinés aux bébés (Légifrance 2010), en se basant sur des études qui confirment la vulnérabilité des enfants et des nouveau-nés aux expositions environnementales à ce xénobiotique. Depuis les interdictions généralisées du BPA dans certains pays, le bisphénol S est désormais fréquemment utilisé comme un substitut structural-analogue au BPA.

En somme, le BPS est utilisé dans les papiers thermiques, les emballages alimentaires ainsi que dans les produits dits « BPA free » ou « sans BPA ». La question se pose à savoir si

les résultats des études déjà faites sont suffisants pour pouvoir prendre des décisions sur l'interdiction de ce composé dans certaines industries comme dans le cas du BPA.

2. Propriétés physicochimiques

Le bisphénol S ou bis (4-hydroxyphenyl) sulfone, couramment appelé « BPS », est une substance synthétisée à partir de la sulfonation du phénol ; il s'agit d'une liaison de deux cycles phénoliques C_6H_4OH avec une fonction sulfonyle (SO_2) dans une solution sans solvant (Johannes 2014). Le rendement de cette réaction en BPS est de 60% (ANSES 2013).

Les propriétés physicochimiques du BPS et BPA sont résumés dans le **Tableau 1**.

Tableau 1 : Les propriétés physicochimiques du bisphénol S et de Bisphénol A

Molécules	Propriétés physico-chimiques		Références
Bisphénol S	Nom	Bis (4-hydroxyphenyl) sulfone	(DATABASE 2018)
	Formule brute	C ₁₂ H ₁₀ O ₄ S	(Wu et al. 2018)
	Masse molaire	250,27	(Wu et al. 2018)
	Densité	1,366 3 g/cu cm à 15 °C	
	Hydrosolubilité	1100 mg/L à 20 °C	(Wu et al. 2018)
	Point de fusion	240.5 C	(DATABASE 2018)
	Solubilité	Insoluble dans l'eau, mais soluble dans l'éthanol, l'éther et légèrement soluble dans le benzène et le DMSO	(Haynes 2014)
Bisphénol A	Nom	4,4' — dihydroxy-2, 2-diphénylpropane	(O'Neil et al. 2001)
	Formule brute	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	
	Masse molaire	228,28	
	Densité	1 195 g/ml à 20 °C	
	Hydrosolubilité	120 µg BPA/mL à 20 °C	
	Point de fusion	157 °C	

3. Production et utilisation du BPS

La production du bisphénol S est estimée être des plus élevées aux États-Unis. En effet, selon les évaluations faites dans le cadre du programme de toxicologie national des États-Unis, les quantités produites entre les années 1986 et 2000 ont été estimées pour atteindre 10 000 kilogrammes par an (Berg et al. 1994)

Le BPS est ainsi utilisé comme monomère de plastiques de type polycarbonate et résines époxydes et comme révélateur de l'encre des papiers thermiques (Liao et al. 2012a). Le BPS est utilisé dans divers secteurs industriels tels que la fabrication des emballages alimentaires métalliques, agissant comme anticorrosifs et comme stabilisateur des polymères de plastique, tels que les résines polyéther sulfones, polycarbonates et époxy. Ces polymères sont également utilisés dans différents domaines en fonction de leurs propriétés physiques (INERIS 2012). Selon INERIS (2012), les résines époxy sont utilisées dans les matrices plastifiées pour leur conférer une protection et une stabilité thermique.

Les propriétés physiques des résines diffèrent en fonction de leurs compositions chimiques. Les résines polycarbonates sont généralement utilisées dans plusieurs procédés de fabrication de plastique comme les bouteilles thermo-soufflées, pour conférer une stabilité mécanique [une rigidité du plastique], résistance aux chocs et une transparence au niveau de l'apparence allant jusqu'à 90 % à 1 mm d'épaisseur (Blondel 2006). Le BPS est aussi présent dans les appareils électroniques tels que les circuits imprimés (ANSES 2013), dans le revêtement des papiers thermiques et dans les tickets de caisses ; il intervient au cours du processus d'impression agissant comme révélateur d'encre quand le papier est chauffé, permettant de lui donner des propriétés thermosensibles (ANSES 2013).

4. Législation du BPS

À l'heure actuelle, il existe très peu d'études portant sur l'évaluation des risques associés à la présence du BPS dans l'environnement [dans l'air, l'eau, le sol et les aliments]. Cependant, les chercheurs commencent à mieux documenter les effets associés à l'exposition au BPS dans les conditions contrôlées par le biais d'études de surveillance biologique, ainsi que d'estimer les

niveaux d'exposition pour différents scénarios d'exposition [par exemple, dans un milieu professionnel].

En revanche, l'utilisation du BPS est réglementée dans certains secteurs, comme dans les industries des transformations et conditionnements des aliments. En effet, les emballages alimentaires sont soumis à des normes en matière d'utilisation du BPS. Pour se faire, des études ont été réalisées pour pouvoir fixer une valeur limite de migration spécifique [LMS]. Cette valeur définit la dose maximale d'une substance particulière qu'un emballage peut céder à l'aliment, ceci en tenant compte de la toxicité de la substance en question.

Une dose journalière admissible a été déterminée également par Liao et Kannan (2014b) soient 646 et 664 ng/kg poids corporel par jour respectivement pour les hommes et les femmes. Par comparaison, la DJA du BPA, qui a été déterminé à la suite d'une évaluation complète du risque par l'Autorité européenne de sécurité des aliments [EFSA], a été fixée à 500 ng/kg poids corporel.

Bien que le Canada ait été le premier pays à interdire le BPA dans les biberons en polycarbonates, il n'existe actuellement pas de réglementation spécifique au BPS. Au niveau de l'Union européenne, le BPA est interdit et le BPS est enregistré dans la liste des substances de la réglementation REACH. La LMS déterminée pour le BPS est de l'ordre de 0,05 mg de BPS/kg poids corporel ; cette valeur dépend des conditions de stockages ainsi que des propriétés physico-chimiques de l'aliment conditionné (Journal officiel de l'Union européenne 2011).

1.2 Exposition externe

L'exposition externe ou bien environnementale au BPS peut se produire par plusieurs voies, soit par le biais des contenants alimentaires, par l'inhalation des particules de BPS présentes dans l'air ou bien par contact cutané direct.

5. Exposition alimentaire

L'ingestion du BPS peut se produire à travers les denrées alimentaires. Une étude a été faite par des chercheurs en Espagne dans le but de confirmer la possibilité de contamination par le BPS d'aliments conditionnés dans des boîtes de conserve [maïs sucré, pois, artichauts...] et d'évaluer son coefficient de migration emballage/aliment. Ces valeurs ont ensuite été comparées avec les limites de migration spécifique [LMS]. Les résultats de cette étude ont montré que les aliments conditionnés dans des boîtes de conserve contenaient des concentrations relativement élevées en BPS. Cependant, le BPS a été détecté dans les échantillons de liquides en conserve. Ces concentrations allaient jusqu'à 175 ± 18 ng/ml [échantillon de pois et carottes] comparativement au BPA dont la concentration atteignait 254 ± 14 ng/ml pour le même échantillon. Dans un deuxième volet, les concentrations de BPS ont été déterminées en variant des paramètres expérimentaux [la température et la solution d'extraction]. Les résultats ont confirmé que certains facteurs peuvent jouer un rôle au niveau du ratio de valeur par rapport à la LMS. En particulier, une augmentation significative des concentrations de BPS dans les aliments, comme dans le liquide de conservation, a été observée au cours de la période de contact [240 h] en variant la température [entre 25 °C et 80 °C]. La concentration du BPS a été multipliée par 5 suite à une élévation de la température de 55 °C dans tous les échantillons.

L'acidité de la solution influence aussi l'échange de matière entre l'emballage et l'aliment conditionné. Une différence a été notée entre la concentration du BPS dans les aliments stimulés avec l'addition d'acide acétique comparativement à ceux analysés dans une solution aqueuse (Viñas et al. 2010).

Ainsi, l'échange de substance chimique entre l'emballage et les aliments soit, spécifiquement, le passage du BPS de la boîte à l'aliment conditionné est considéré comme une source de contamination affectant la salubrité des produits alimentaires. Cependant, ce phénomène peut être influencé/stimulé par plusieurs facteurs, ce qui augmente également d'une façon indirecte et significative le niveau d'exposition au BPS.

6. Exposition cutanée

L'exposition par voie cutanée est plus répandue dans les milieux de travail, plus spécifiquement chez les caissiers qui manipulent les reçus de caisse [papiers thermiques] ou même les reçus bancaires. Des échantillons d'urine ont été collectés chez des volontaires travaillant en tant que caissiers, dans le cadre d'une étude visant à quantifier les concentrations de BPS excrétées et de prédire par la suite la dose d'exposition en tenant compte des barrières biologiques. Des chercheurs ont quantifié les concentrations de BPS dans le papier thermique pour estimer la dose absorbée par le corps et l'ont comparé par la suite avec la dose excrétée dans l'urine des caissiers manipulant ces reçus et d'autres qui n'en manipulant pas. Les résultats de cette étude ont montré que les niveaux de BPS total (BPS plus BPSG) quantifiés étaient quatre fois plus élevés chez les caissiers comparativement aux témoins, avec des concentrations médianes de 2,53 et 0,67 µg/L, respectivement. Ceci confirme que l'exposition au BPS ne touche pas seulement les caissiers mais aussi toute la population (Ndaw et al. 2018).

Le BPS a aussi été détecté dans les produits de soins personnels [gel douche, shampooing, maquillage, savon liquide, lotion corporelle, pâte à dents et désinfectants provenant des États-Unis [n=114] et de la Chine [n=117]; cette étude avait été menée pour évaluer les niveaux d'exposition à différents contaminants environnementaux dont le bisphénol A [BPA] et ses analogues [bisphénol AF [BPAF], bisphénol AP [BPAP], bisphénol B [BPB], bisphénol F [BPF], bisphénol P [BPP], bisphénol S [BPS], bisphénol Z [BPZ]]. Les analyses ont montré des teneurs en BPS relativement semblables à celles du BPA et les plus fortes concentrations ont été notées dans les échantillons du maquillage et de crème corporelle avec des concentrations [moyenne géométrique] de 0,504 et 0,437 ng/g de poids humide ou poids de produit, respectivement. En outre, les concentrations étaient pratiquement similaires dans les échantillons de produits collectés de la Chine et des États-Unis, soit des concentrations en moyenne [géométrique] respectivement de 0,451 et 0,382 ng/g de poids humide ou poids de produit (Liao et Kannan 2014a).

La perméabilité cutanée est connue pour être influencée par plusieurs facteurs : i) physicochimiques, comme la taille de la molécule, la solubilité dans l'eau ou la lipophilie et la charge ; ii) anatomiques, comme la partie du corps qui est en contact direct avec la substance

toxique (la paume des mains, le bras), la pilosité de la peau ou également l'occlusion cutanée ; iii) individuels, dont l'hydratation et la porosité de la peau (Duque Fernandez 2008).

7. Exposition par inhalation

Le BPS peut être aussi présent sous forme de poussières, ceci pourrait être une source d'exposition par l'inhalation des particules présentes dans l'air respiré. Une étude a été menée par Liao et al. (2012a, b) afin d'analyser la présence de BPS dans les poussières prélevées dans des foyers de quatre pays différents. Le BPS a été détecté dans tous les échantillons de poussières analysés, mais les proportions étaient différentes. Les plus fortes concentrations ont été notées dans les échantillons de poussière intérieure (n = 156) provenant du Japon avec une moyenne (géométrique) de 0,82 µg/g de poussière comparativement à ceux collectés aux États-Unis, en Corée et en Chine dont les moyennes étaient de 0,63, 0,43 et 0,13 µg/g, respectivement. Une estimation de la dose d'exposition a été faite à partir de cette étude, pour une catégorie de la population. Les nouveau-nés et les enfants se sont avérés être les groupes de la population les plus exposés au BPS, et ceci a été associé à leur comportement, soit sentir ou porter à la bouche des objets qui peuvent contenir du BPS. Les doses journalières respectives les plus élevées étaient de 2,85 et 3,37 ng/kg de pc/jour au Japon, de 2,20 et 3,09 ng/kg de pc/jour aux États-Unis et de 1,27 et 1,50 ng/kg de pc/jour en Corée.

1.3 Expositions humaines au bisphénol S : données de biosurveillance

Depuis des années, les recherches scientifiques sont de plus en plus orientées vers la biosurveillance, c'est-à-dire le suivi du devenir de la substance étudiée dans une matrice biologique humaine ou animale, comme dans le sang, l'urine, les cheveux, le lait maternel ou la salive, en fonction du temps. Cette mesure de biomarqueur d'exposition consiste donc à déterminer les concentrations du xénobiotique dans l'organisme, telle que les quantités qui circulent dans le sang ainsi que les quantités excrétées dans l'urine et détoxifiées du corps. Le choix de la matrice biologique se fait en fonction des caractéristiques physico-chimiques de la molécule et de son comportement face au mécanisme de biotransformation.

Une étude a été menée entre les années 2010 et 2011 dans le but d'estimer les niveaux d'exposition de la population générale au BPS aux États-Unis et dans sept pays asiatiques. Des échantillons d'urine des participants des différents pays (n = 315) ont été prélevés auprès de la population générale en Corée, en Chine, au Japon, au Koweït, aux États-Unis, en Inde, en Malaisie et au Vietnam. Les échantillons ont été analysés afin de confirmer l'existence du BPS, en concentrations élevées, dans le spécimen humain. Les résultats de cette étude ont montré une variation au niveau des concentrations de BPS dans les échantillons d'urines collectées avec un pourcentage de détection du BPS dans les échantillons analysés de l'ordre de 81 %. Les échantillons ayant les plus fortes concentrations en BPS sont ceux en provenance des volontaires japonais ; le BPS était présent dans 100 % des échantillons collectés avec moyenne (géométrique) de l'ordre de 1,18 ng/mL ou 0,933 µg/g de créatinine [créat.]. Les échantillons des États-Unis montraient une concentration significativement inférieure à celles retrouvées au Japon, soit 0,299 ng/mL ou 0,304 µg/g créat. Une comparaison sur la base de l'âge, du sexe et du milieu de vie a été faite dans le cadre de cette étude, dans le but d'expliquer la variabilité dans les taux de BPS. Les résultats ont confirmé que les concentrations en BPS sont inversement proportionnelles à l'âge, c'est-à-dire que les concentrations les plus élevées ont été retrouvées chez les enfants et les adolescents âgés de moins de 20 ans (moyenne géométrique de 0,271 µg/jour) et celles les plus faibles chez les volontaires adultes (Liao et al. 2012a).

En 2018, les recherches sont devenues de plus en plus spécifiques, visant une population plus susceptible à être plus exposée (dans les milieux de travail). Une équipe de recherche à l'Institut National de Recherche et de Sécurité en France (INRS) a étudié l'exposition des caissiers (n= 17 caissiers et 15 contrôles) au BPS suite à leurs manipulations des tickets de caisse. Des participants volontaires à cette étude ont accepté de fournir des échantillons d'urine avant et après leurs quarts de travail durant une journée complète (24 h après l'heure de début du quart de travail), soit 90 échantillons d'urine des caissiers et 73 échantillons d'urine des participants témoins. Le BPS a été détecté pratiquement dans les échantillons de tous les participants. Les concentrations moyennes de BPS dans les échantillons d'urine collectés des caissiers étaient quatre fois plus élevées que celles retrouvées dans les urines des sujets contrôles, respectivement de l'ordre de 2,53 µg/L (équivalent à 2,07 µg/g de créatinine) et 0,67 µg/L (équivalent à 0,52 µg/g de créatinine) (Ndaw et al. 2018). En outre, des échantillons de reçus de caisse manipulés ont été collectés aussi pour s'assurer de la présence du BPS dans le papier thermique.

D'autre part, entre les années 2014 et 2016, une étude française a fait également l'objet d'une évaluation des quantités du BPS dans l'urine de 900 adultes et 500 enfants qui résident en France (Balicco Alexis et al. 2019) La concentration médiane de la totalité des échantillons était de l'ordre de 0,31 µg/L [équivalent de 0,42 µg/g de créatinine] avec une concentration médiane de 0,44 µg/g de créatinine pour les enfants et 0,53 µg/g de créatinine dans les échantillons des adultes. Dans cette étude, les taux élevés de BPS dans les échantillons des adultes ont été associés à la consommation excessive d'aliments emballés.

1.4 Toxicité du BPS

Plusieurs paramètres peuvent influencer la réponse toxique associée à l'exposition au BPS, dont la dose d'exposition qui diffère selon la concentration environnementale en BPS. La biodisponibilité de la substance dans le corps humain est aussi un des paramètres limitant la réponse toxique, soit la fraction de la dose introduite dans le corps avant d'atteindre la circulation systémique [c.-à-d. la fraction absorbée par rapport à la dose ingérée, inhalée ou appliquée sur la peau].

La toxicité de la substance est également influencée par le mécanisme de biotransformation (détoxification ou bioactivation) de la substance que ce soit en phase I ou en phase II. Certaines substances peuvent subir une réabsorption au niveau des reins ; ceci peut être dû à des caractéristiques spécifiques du xénobiotique [l'hydrophilie, la lipophilie et la taille de la molécule (Alvergnas-Vieille 2011)]. Ce n'est que dans les dernières années, que les recherches ont avancées sur la réponse toxique associée à l'exposition au BPS, notamment depuis sa substitution au BPA.

8. Effet endocrinien

Les perturbateurs endocriniens ou les xénohormones sont des molécules capables de déclencher ou inhiber les activités hormonales dans le corps. Les xénobiotiques agissent sur leur hôte par des mécanismes d'actions différents ; ils peuvent interférer au niveau de la production naturelle des hormones comme l'œstrogène et testostérone, en stimulant leurs mécanismes de synthèse, leur distribution ou leur détoxification. Ils peuvent aussi être des hormono-mimétiques

et entrer en compétition avec les hormones naturelles dans le corps, déclenchant la même réponse biologique de l'hormone naturelle. Les xénobiotiques peuvent également être des agents inhibiteurs qui peuvent empêcher l'action de ces hormones en se fixant sur les récepteurs avec lesquels elles interagissent habituellement (Multigner et Kadhel 2008),

Plusieurs auteurs ont évalué, dans le cadre d'expériences *in vitro*, l'effet du BPS et ses métabolites sur différents récepteurs œstrogéniques. Skledar et al. (2016) ont étudié le métabolisme du BPS sur des cultures cellulaires de levure de type *Saccharomyces cerevisiae* dans le but de déterminer le processus de biotransformation de la molécule en métabolites hydroxylés et conjugués glucuronides ainsi que les mécanismes d'action de ces formes sur les récepteurs œstrogéniques et androgéniques. Le BPS ou ses métabolites, soit le BPS hydroxylé BPSM1 (métabolisme de phase I) et le BPS glucurono-conjugué (conjugaison de phase II) ont été incubés avec les cultures cellulaires. Les auteurs ont déterminé la relation entre l'augmentation des concentrations de BPS, BPSM1, BPS-glucuronide ou œstradiol E2 et l'induction des récepteurs œstrogéniques E_{α} . Le BPS-glucuronide n'a pas montré d'induction des récepteurs, alors que le BPS et de façon moindre le BPSM1 [concentration efficace 50 [EC50] de $8,4 \cdot 10^{-5}$ et $6,7 \cdot 10^{-4}$ M, respectivement] ont présenté une certaine action sur ces récepteurs, bien qu'à un degré moindre que l'E2 (EC50 de $2,6 \cdot 10^{-10}$ M). Cette étude a confirmé que le BPS, qui a des similarités structurales avec l'œstradiol (Figure 3) pouvait activer les récepteurs E_{α} (Skledar et al. 2016).

En conclusion, les auteurs ont montré que la forme BPS-glucuronide était inactive envers les récepteurs œstrogéniques alors le BPS et le BPSM1 présentaient une activité œstrogénique agoniste. Ces auteurs ont également évalué l'activité agoniste et antagoniste du BPS et BPSM1 sur les récepteurs des hormones thyroïdiennes et ont montré un effet antagoniste de ces deux molécules à des concentrations du même ordre de grandeur (EC50 de $4,3 \cdot 10^{-5}$ et $6,9 \cdot 10^{-5}$ M).

9. Effet reprotoxique

Le BPS semble avoir un effet toxique sur la reproduction chez l'humain similaire à son analogue, le BPA. Des chercheurs ont montré que le BPS à une dose de l'ordre de 100 nmol/L contribuait à la réduction des taux de sécrétion de la testostérone chez les rats, tout en inhibant la

sécrétion de l'hormone lutéinisante par les cellules de Leydig qui contrôlent la sécrétion de la testostérone ; la capacité inhibitrice de la sécrétion de testostérone du BPS est même plus puissante que celle notée avec les essais effectués avec le BPA qui n'avait montré aucun effet à la même dose (100 nmol/L). Cette étude a évalué la relation entre l'exposition au BPS et son effet sur la stéroïdogénèse, qui est le cycle qu'une molécule de cholestérol peut subir pour contribuer à la synthèse des hormones stéroïdiennes (comme les œstrogènes, la progestérone et la testostérone) (Eladak et al. 2015).

Une étude récemment publiée par des chercheurs américains a analysé l'exposition de sept groupes de souris en gestation (n= 4 ou 5 par groupe) par gavage soit au véhicule contrôle (huile de maïs), soit à 0,5 ou 50 µg/kg/jour de BPS, BPA ou de BPE. Les doses ont été choisies par rapport à des valeurs de référence. Cette étude a confirmé que le BPS ainsi que ses analogues, le BPA et le BPE affectaient la fonction reproductive des femmes (Shi et al. 2019).

10. Effet obésogène

Plusieurs chercheurs ont associé l'effet obésogène à l'exposition au BPS et, pour pouvoir confirmer cette relation biologique, des chercheurs de l'Institut national de la recherche agronomique, en France, ont réalisé des essais chez des animaux visant à mieux expliquer les mécanismes impliqués dans la relation entre l'obésité et le niveau d'exposition au BPS (Ivry-Del Moral et al. 2014). Les expériences ont consisté à exposer des souris de type C57Bl/6 à différentes concentrations de BPS, soit 0,2, 1,5 et 50 µg/kg pc/j sur une période s'étalant jusqu'à 23 semaines et à appliquer un régime alimentaire hyperlipidique (HFD) en les comparant à des souris contrôles ayant eu le même régime alimentaire mais qui n'ont pas été exposés au BPS. Le poids des souris a été déterminé aux trois semaines. Un suivi de taux de sécrétion des TAG (triacylglycérides) a été fait par la mesure des concentrations plasmatiques des TAG à partir de la 8e semaine. Les résultats cette étude ont montré que le BPS provoquait une augmentation significative de la masse corporelle des souris ; celle-ci a été estimée à environ 10 à 15 % du poids initial.

Des recherches ont été élaborées, d'une façon plus approfondie, dans le but de bien comprendre les processus impliqués dans l'obésité liée à l'exposition au BPS. Récemment, les

chercheurs chinois ont réalisé des tests sur les poissons-zèbres (Wang et al. 2019). Des embryons de poisson-zèbre ont été répartis d'une façon aléatoire dans cinq aquariums. Trois groupes ont été exposés par la suite à de différentes doses de BPS, soit 1 mg/L (BPS1), 10 mg/L (BPS10) et 100 mg/L BPS (BPS100). Un groupe témoin a été traité avec le diméthylsulfoxyde (DMSO 0,002%) et le cinquième groupe a été élevé avec un régime alimentaire accentué. Une comparaison a été faite sur la base des poids des embryons qui ont été déterminés pour les cinq groupes. Les résultats de cette étude ont montré que les groupes qui ont été exposés au BPS ainsi que ceux qui ont été «suralimentés» présentaient un taux de sécrétion des TAG significativement plus élevé. D'après les résultats évoqués dans le cadre d'étude citée précédemment, le BPS stimule la transcription de gènes responsables de la production de TAG dans l'organisme, spécifiquement les séquences de gène *acc1* (acétyl-CoA carboxylase1), le *agpat4* (1-acylglycerol-3-phosphate O-acyltransférase 4) et le *mgll* (monoacylglycérol hydrolyzate). Le BPS contribue aussi à une réduction de taux de sécrétion des transporteurs des TAG dans le sang, en inhibant l'expression des gènes *apoEa* (apolipoprotéine Ea) et *apoA-IVb.1* (apolipoprotéine A-IVb.1) (Wang et al. 2019; Wang et al. 2018). En conclusion, le BPS a montré une forte capacité à perturber et à dérégler le niveau d'expression des gènes impliqués dans la sécrétion des TAG ainsi que leur transport et circulation dans l'organisme.

Des chercheurs tunisiens ont également effectué des analyses de gains de poids sur des souris après exposition par voie orale à des concentrations variables répétées de BPS (25 µg/kg/jour, 50 µg/kg/jour et 100 µg/kg/jour) pour une période s'étalant jusqu'à dix semaines (Rezg et al. 2018). Des mesures des poids des souris ont été effectuées, une fois à toutes les deux semaines, pour pouvoir déterminer le gain de poids par semaine par comparaison avec des souris témoins. Une augmentation significative du gain de poids des souris a été notée après deux semaines d'exposition par voie orale à toutes les doses par rapport aux souris témoins.

11. Inhibition des effets de médicaments

La réponse clinique aux médicaments se caractérise par une grande variabilité interindividuelle, pour une même posologie. Certaines substances peuvent influencer aussi la réponse à un médicament en agissant sur des transporteurs impliqués dans sa distribution. La

membrane cellulaire comporte des systèmes de transport moléculaire pour faciliter l'échange des molécules entre le milieu intracellulaire et extracellulaire. Le transport actif favorise le transfert des molécules contre un gradient de concentration, grâce à l'utilisation d'une protéine transmembranaire de type pompe nécessitant une source d'énergie (ATP). A contrario, le transport passif se fait selon le gradient électrochimique, sans consommation d'énergie et s'applique plutôt aux petites molécules hydrophobes (polaires). Ces mécanismes sont essentiels pour comprendre la cinétique de certaines molécules. Parmi ces transporteurs, on peut citer les transporteurs de cations organiques (OCTs) et les transporteurs d'anions organiques (OATs) qui sont des protéines membranaires responsables de l'absorption par le tube digestif, la distribution tissulaire, l'élimination biliaire et rénale de certains types de xénobiotique (Dawed et al. 2019).

Bruyere et al. (2017) ont documenté l'effet de certains bisphénols (BPA, BPF, tétrabromobisphénol A [TBBPA] et BPS) sur l'activité des transporteurs SLC («the solute carrier»). L'étude a été focalisée sur le suivi des concentrations intracellulaires de substrats accumulés dans le but de déterminer la capacité des transporteurs SLC à faire passer les médicaments à travers la membrane cellulaire. En comparaison avec le BPA, BPF et TBBPA (qui est un retardateur de flamme bromé), le BPS agit sur plusieurs types de transporteurs de cations organiques en les inhibant (MATE2-K, OAT1 et OAT3) ou stimulant (OCT1 et OCT3). Le taux d'inhibition des transporteurs par l'action des BPS était proportionnel aux concentrations. Le BPS montrait une capacité inhibitrice statistiquement significative de l'activité des transporteurs OAT3 à la suite d'une exposition à des concentrations allant de 0,1 μM à 100 μM et une IC_{50} de l'ordre de $23,3 \pm 1,5 \mu\text{M}$. Par comparaison, aux mêmes doses d'exposition, le BPA avait une IC_{50} de l'ordre de $9,2 \pm 1,2 \mu\text{M}$ (Bruyere et al. 2017).

12. Stress oxydatif inflammatoire

Le stress oxydant (mieux connu sous le nom de stress oxydatif) est un mécanisme de toxicité activé par l'oxygène pour produire plusieurs molécules toxiques. Il s'agit de la surproduction des radicaux libres (aussi appelé espèces réactives de l'oxygène [ERO]) en présence d'oxygène pour former des composés extrêmement réactifs pouvant dénaturer (oxyder) plusieurs nutriments essentiels (lipides, glucides et protéines) ce qui affecte indirectement

certaines fonctions vitales du corps. D'après des études récentes, le BPS pourrait être aussi impliqué dans des mécanismes de stress oxydatif (Hercog et al. 2019; Xiao et al. 2019). Des tests sur des *Caenorhabditis elegans* ont été faits par des chercheurs de l'Université de Jiangsu, Zhenjiang dans le but de quantifier le taux de ROS formé à la suite d'une exposition au BPS à différentes concentrations (0,001 ; 0,01 ; 0,1 ; 1 ; 10 et 100 μ M). La concentration des ROS a montré une augmentation proportionnelle à la concentration de la dose d'exposition de BPS s'élevant de 778,13 % par rapport au groupe témoin. Une réduction de taux de superoxydes dismutases (SOD) a été remarquée avec un pourcentage de l'ordre de 47 % par rapport au groupe témoin. Cette enzyme est impliquée dans le mécanisme d'élimination des radicaux libres (Hercog et al. 2019; Xiao et al. 2019),

13. Passage materno — fœto-placentaire et effets fœto-toxiques

Le placenta est un organe essentiel pour assurer le développement du fœtus. Il est défini comme étant une barrière biologique qui joue un rôle dans le mécanisme de l'apport des nutriments et la filtration ou l'élimination des produits de dégradation. Il protège le fœtus également contre l'action des substances toxiques, virus et les médicaments. Plusieurs expérimentations ont été réalisées pour évaluer les niveaux d'expositions fœtales en tenant compte de la perméabilité placentaire aux nutriments, médicaments et aux substances toxiques, des variabilités chimique et moléculaire des toxiques (taille, formes, affinité, polarité.), ainsi de la variabilité inter espèce (composition placentaire animale vs humaine) et des changements physiologiques durant la grossesse. Généralement, la distribution se fait dans l'espace extracellulaire, donc la liaison des xénobiotiques aux protéines plasmatiques peut limiter leurs diffusions et par la suite leur détoxification et élimination. Ceci peut aussi faire varier la perméabilité materno — fœto-placentaire en fonction du gradient de concentration (Buatois et al. 2014)

L'exposition fœtale au BPS a été confirmée dans des études menées sur des femmes enceintes qui résident en Chine et âgées de 24 –37 ans dans un stade avancé de grossesse (n = 61) (Liu et al. 2017). Un total de 122 échantillons sanguins a été prélevé, soit 61 échantillons de sang maternel prélevé au cours des deux jours avant l'accouchement et 61 échantillons de sang du

cordon ombilical prélevés immédiatement après l'accouchement. Le BPS a été détecté sous forme conjugué dans 11 échantillons (soit 4/61 des échantillons de sang maternel et 7/61 des échantillons du cordon ombilical) et 4 échantillons parmi les 11 ont permis de montrer des concentrations moyennes dans le sérum maternel et fœtal. Les concentrations de BPS détectées étaient de l'ordre de 0,07 ng/mL dans le sang maternel et 0,08 ng/mL dans le sang fœtal pour le premier couple (mère/bébé) et 0,03 ng/mL de BPS dans le sang maternel et 0,04 ng/mL pour le deuxième couple (mère/bébé). Ces résultats ont montré que plus la concentration de BPS est élevée dans le sang de la mère, plus le fœtus est exposé par voie placentaire, puisque c'est la seule voie d'exposition probable des fœtus (Liu et al. 2017).

Selon Grandin et al. (2018) la différence entre les concentrations plasmatiques des protéines et leur affinité envers le BPS peut influencer la distribution du BPS entre la circulation maternelle et fœtale. Leur étude visait à analyser les taux de BPA et BPS liés aux protéines plasmatiques chez la brebis en gestation tout au long de la grossesse ainsi que chez le fœtus. Pour ce faire, une extraction par précipitation a été effectuée à l'aide d'une membrane en cellulose semi-perméable aux substances à poids moléculaire supérieur à 5000 daltons pour extraire les protéines et pour pouvoir quantifier les taux de protéines dans le liquide plasmatique maternelle et fœtale. D'après les résultats de cette étude, il s'est avéré que le BPA, sous sa forme libre, avait une affinité 1,5 fois plus élevée à traverser la membrane placentaire comparativement au BPS libre. Cependant, la clairance du BPA était plus faible que celle du BPA ce qui explique la variation au niveau de la toxicité des deux composés.

Catanese et Vandenberg (2016) ont étudié, dans un cadre expérimental, les effets d'une exposition de souris femelles au BPS à de faibles doses durant la période de gestation et d'allaitement. Les résultats ont montré des effets au niveau de la formation des structures neuronales du fœtus et de leurs progénitures ainsi que des changements comportementaux.

1.5 Toxicocinétique du BPS

Les études de biosurveillance sont de plus en plus répandues dans le monde de la recherche scientifique. Les chercheurs commencent à documenter le comportement du BPS dans des matrices biologiques pour pouvoir tracer son devenir dans l'organisme (métabolisme) et par

la suite pour déterminer les effets toxiques probables causer par une exposition a cours terme ainsi que des études chroniques.

La toxicocinétique représente l'étude du processus que subit la substance tout le long de son passage dans le corps, en faisant référence aux différents phénomènes et réactions biologiques, ceci englobe l'absorption du xénobiotique par le tractus gastro-intestinal par la peau ou par les barrières pulmonaires, sa distribution vers les différents organes du corps par le biais de la circulation sanguine, la biotransformation, soit de phase I ou phase II, et l'élimination dans l'urine ou la matière fécale, ceci tout en déterminant les paramètres pharmacocinétiques (Ivry-Del Moral et al. 2014). L'évaluation du profil toxicocinétique du BPS permet de déterminer ses concentrations plasmatiques et celle de ses métabolites en fonction du temps ainsi que les quantités éliminées dans l'urine par rapport à la dose initiale d'exposition.

Jusqu'à ce que le travail de maîtrise présenté soit initié, une seule étude toxicocinétique du BPS dans l'organisme humain avait été réalisée à la suite d'une exposition par voie orale chez des volontaires. Cette étude a été menée par une équipe de chercheurs de l'école de santé publique de l'Université nationale de Séoul qui a consisté à élaborer les profils temporels plasmatique et urinaire du BPS à la suite d'une exposition par voie orale des volontaires à une seule dose (8,75 µg/kg de poids corporels). L'étude a été effectuée sur des volontaires (4 hommes et 3 femmes) âgés de 23 à 36 ans. Les participants ont ingéré des biscuits contenant la dose de BPS. Des prélèvements sanguins et des échantillons d'urine en séries ont été effectués sur une période de 48 heures. Les autres études cinétiques in vivo ont été réalisées chez l'animal (Gayrard et al. 2019a; Grandin et al. 2017; Grandin et al. 2018; Taylor et al. 2010) Des études in vitro ont également été réalisées (Liu et Martin 2019; Skledar et al. 2016). L'ensemble de ces études sont résumées en termes d'absorption, distribution, métabolisme, excrétion.

14. Absorption

- **Exposition orale**

Comme tout autre xénobiotique ingéré par voie orale, le BPS est absorbé majoritairement au niveau des hépatocytes (les cellules du foie) pour pouvoir atteindre la circulation systémique, ceci a été montré dans l'étude de (Gayrard et al. 2019b) qui ont analysé en un premier temps le processus d'absorption du BPS par l'évaluation de la biodisponibilité à la suite d'une exposition

orale. Il s'agit de l'effet de premier passage hépatique, ce qui définit la partie détoxifiée directement avant d'atteindre la circulation sanguine systémique. Pour déterminer la biodisponibilité de BPS après une exposition par voie orale, 20 $\mu\text{mol/kg}$ de pc ont été perfusées par voie intraveineuse à six porcelets. La voie intraveineuse a été utilisée comme une voie de référence, ceci en s'assurant que 100 % de la dose perfusée serait présente dans la circulation systémique et prête pour la deuxième phase de la cinétique de BPS, soit la biotransformation. Dans un deuxième volet, 72 h après la première exposition, les six porcelets ont été exposés à 40 $\mu\text{mol/kg}$ de pc par administration orale. Des prélèvements sanguins et des collectes urinaires ont été effectués également durant les trois jours post-exposition (première et deuxième exposition). Les mêmes expériences ont été effectuées avec le BPA dans le but de comparer la biodisponibilité du bisphénol S et du Bisphénol A dans un même modèle animal. Cette étude a montré que 99 % de la dose administrée par voie orale était présente dans le sang après $0,53 \pm 0,28$ h, ce qui définit la biodisponibilité de BPS, comparativement à 77 % obtenus après exposition au BPA. Ceci a été confirmé dans l'étude de Oh et al. (2018) qui a estimé la même valeur de biodisponibilité après une exposition de volontaires au BPS par voie orale.

- **Exposition cutanée**

L'absorption du BPS par la peau n'est pas un phénomène à négliger par rapport aux autres voies d'exposition. La perméabilité cutanée a été mise en évidence dans une étude récente effectuée sur des tissus de peau humaine fraîche dans le but de comparer l'absorption cutanée du BPS et de BPA, ceci en injectant une dose de l'ordre de 20 $\mu\text{g/cm}^2$ de de BPS, soit l'équivalent de 1,6 $\mu\text{mol/mL}$ ou 1,75 $\mu\text{mol/mL}$ de BPA (mêlé avec différents véhicules [acétone, sébum et eau] (Champmartin et al. 2020), Les résultats de cette étude ont confirmé que la quantité de BPS absorbé était faible par rapport à celle de BPA avec le même véhicule. Le pourcentage de la dose de BPS absorbé était inférieur à 1 % ; cependant le BPS est resté en quantités importantes sous forme inchangée au niveau de la peau [20 % à 47 % de la dose appliquée]. Dans le même objectif expérimental (Liu et Martin 2019) ont comparé la capacité de la peau à absorber et métaboliser le BPS et son analogue, le BPA, sur la base de modèles humains et expérimentaux. Dans un premier volet, six participants ont été exposés pendant 10 minutes simultanément au BPA et après au BPS par la manipulation de deux types de papiers, le premier contenant 25 mg

de BPA-d6/g de papier pendant 5 minutes et le deuxième des reçus de caisse contenant 21 mg de BPS/g de papier durant 5 minutes. La perméabilité cutanée au BPS et au BPA a été évaluée aussi à partir des expériences in vitro sur un tissu synthétique morphologiquement comparable aux tissus cellulaires de la peau. L'étude de Liu et Martin (2019) a confirmé que la fraction du BPS absorbée par la peau n'était pas aussi importante comparativement à celle du BPA, ceci a été déduit à partir des deux expérimentations in vitro ainsi que dans le modèle humain. D'autres études ont confirmé également que l'utilisation des désinfectants à base d'alcool avant ou après la manipulation des tickets de caisses peut influencer la perméabilité cutanée en stimulant considérablement l'absorption du bisphénol S par la peau (Hormann et al. 2014).

15. Distribution

Suivant la nature physico-chimique du xénobiotique, ce dernier est véhiculé dans l'organisme sous différentes formes, soit il se trouve dissous dans le plasma, soit fixé sur les protéines plasmatiques, spécifiquement l'albumine. Il sera par la suite distribué vers les différents tissus par de la circulation sanguine (Carme 2016). Dans l'étude de Carme (2016), la capacité des deux analogues BPA et BPS à se fixer sur les protéines plasmatiques a été évaluée, en suivant les concentrations des complexes protéine-BPS et BPS libre dans le sang par la méthode de la dialyse à l'équilibre. Les résultats de cette étude ont mené à deux conclusions : i) il existe un phénomène de saturation, c.-à-d. que la concentration plasmatique en albumine est un facteur imitant ; ii) l'affinité du BPS à se fixer sur les protéines plasmatiques est moins élevée que celle du BPA.

16. Biotransformation [métabolisme]

La biotransformation englobe une transformation catalysée par des enzymes d'une substance toxique dans le but d'augmenter l'hydrosolubilité et la polarité des métabolites pour faciliter, dans ce cas, leur élimination dans l'urine ou dans les fèces. La biotransformation d'une substance toxique peut contribuer à augmenter [bioactiver] ou à atténuer [bioinactiver] le degré de toxicité d'une substance. Le bisphénol S est métabolisé principalement en BPS glucurono-

conjugué. Ce dernier est le principal biomarqueur d'exposition au BPS. La forme native non conjuguée [forme libre] dans le sang représente 3 % de la dose absorbée et constitue la forme active toxique responsable des aspects pathologiques engendrés à la suite d'une exposition aiguë ou chronique répétée au BPS (Oh et al. 2018)

- **Métabolisme in vitro**

Plusieurs études in vitro ont été élaborées dans le but de pouvoir estimer le niveau de toxicité du BPS sur des cellules vivantes ainsi que de déterminer les métabolites bioactifs formés dans des conditions contrôlées. L'étude de (Skledar et al. 2016) a été élaborée dans le but d'évaluer l'exposition au BPS sur des cultures cellulaires de levures de type *Saccharomyces cerevisiae*, en mettant dans un milieu réactionnel les cellules de levures et les enzymes responsables à l'hydroxylation du BPS [la phase I de biotransformation] soit les CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2E1 et CYP3A4. Les résultats de ces expériences ont montré une variation au niveau de la capacité de ces enzymes à métaboliser le BPS pour pouvoir le transformer en BPS-hydroxylé. Cette étude a confirmé également que les cytochromes CYP3A4, CYP2C9 et CYP2C19 sont les enzymes les plus efficaces en termes de capacité d'hydroxylation du BPS.

- **Métabolisme in vivo**

Le BPS, comme tout autre xénobiotique, peut suivre deux types de séries de réactions dans l'organisme, soit être hydroxylé [réaction de la phase I] par les CYP450 2C9 et 2C19 et le NADPH [nicotinamide adénine dinucléotide phosphate] pour donner l'ortho-BPS-hydroxylé et le méta-BPS-hydroxylé ou bien être conjugué à une autre molécule [réaction de la phase II]. La voie de biotransformation majeure du BPS est la conjugaison à l'acide glucuronique par les enzymes de la famille UDP-glucuronosyltransférases [UGT], majoritairement par la sous-famille UGT1A9 créant comme métabolites le BPS-glucuronide [BPSG]. Toutefois, le BPS peut aussi se conjuguer aux sulfates. La conjugaison est un processus de détoxification qui a pour but d'augmenter le degré d'hydrosolubilité du bisphénol S facilitant son excrétion du corps (Skledar et Mašič 2016)

Une analyse toxicocinétique du BPA a été réalisée par des chercheurs américains (Taylor et al. 2010) chez les singes et la souris. Les analyses ont été effectuées sur une période d'une semaine, en exposant des femelles singe rhésus et des souris, par voie orale, à une même dose de bisphénol A deutéré [400 µg par kg de pc chaque jour]. Le niveau sérique de BPA-d non conjugué a été suivi sur une période s'étalant sur 24 h durant la première journée suivant le gavage d'une première dose d'exposition [jour 1] et la dernière journée de l'étude suivant l'exposition [jour 7]. Les valeurs maximales des concentrations plasmatiques étaient de l'ordre de 4 ng/mL et ont été atteintes 1 h après exposition. En outre cette quantité de BPA-d a diminué au cours des 24 h suivant l'exposition sans montrer une bioaccumulation sur toute la période d'essai. Les résultats de cette étude suggèrent également la possibilité d'existence d'un cycle entérohépatique au cours duquel le BPA conjugué sécrété dans la bile puis dans les intestins est déconjugué dans les intestins pour subir un retour cyclique vers le foie. La cinétique du BPA chez les singes s'est avérée similaire à celle des souris (Taylor et al. 2010).

17. Excrétion, détoxification

La forme conjuguée du BPS, principalement le BPS glucurono-conjugué est la forme la plus hydrosoluble qui sera éliminée dans l'urine. Selon l'étude de Oh et al. (2018), la demi-vie d'élimination dans les urines a été fixée à $6,81 \pm 0,72$ h et $4,06 \pm 0,38$ h respectivement pour le BPS total et le BPS conjugué. Ceci peut expliquer la différence observée au niveau des constantes d'élimination de BPS ainsi que celle de son métabolite.

2 Problématique et objectifs

L'utilisation du BPS est devenue de plus en plus répandue dans diverses industries de fabrication de produits destinés à l'usage personnel quotidien, mais très peu d'études scientifiques qui ont mis l'accent sur la cinétique de ce composé dans le corps et l'évaluation de la capacité du corps à se détoxifier de la forme active de ce toxique.

Dans le cadre de ce projet, une étude clinique a été réalisée dans le but d'obtenir des données pharmacocinétiques [PK] chez l'Homme, dans des conditions contrôlées. La détermination des paramètres PK du BPS chez l'humain est importante pour conjecturer les niveaux en fonction des conditions environnementales ou professionnelles. Ceci peut aussi contribuer à fixer des valeurs de référence biologiques pouvant être utiles pour prédire l'exposition interne humaine au BPS pour les principales voies d'exposition que constituent les voies orale et cutanée, ainsi que d'évaluer la situation des populations les plus exposées, et en particulier les populations les plus vulnérables comme les femmes en âge de procréer ou enceintes.

3 Méthodes

3.1 Description de l'étude clinique

Une étude clinique a été menée dans le but de documenter la cinétique du BPS et de son métabolite majeur glucurono-conjugué (BPSG) dans le plasma et l'urine de sujets de sexe féminin en âge de procréer à la suite d'une exposition à une seule dose au BPS par voies orale et cutanée. Les mêmes volontaires ont été exposés par voie orale puis par voie cutanée un mois plus tard, afin de garantir l'élimination complète du composé entre les deux expositions. Le protocole d'étude et le formulaire de consentement ont été approuvés par le Comité d'éthique de la recherche clinique (CERC) de l'Université de Montréal avant de commencer l'étude (certificat 17-153-CERES-P). Chaque participant a donné son consentement écrit à participer, a été informé des risques liés à sa participation et de son droit de se retirer de l'étude à tout moment. Chaque participant a reçu également une compensation monétaire pour son temps. Ils ont passé le premier jour de l'étude à l'Université pour les prélèvements de sang et d'urines, puis ont été invités à revenir les trois matinées suivantes pour un prélèvement de sang et à remettre leurs échantillons d'urine. Deux infirmières accréditées étaient présentes pendant toute la durée de l'étude, ont procédé aux prélèvements de sang et ont surveillé les signes et les symptômes.

3.2 Recrutement et méthodes d'exposition

Sept femmes volontaires adultes, en bonne santé et en âge de procréer ont été recrutées sur une base volontaire. Les volontaires étaient âgées entre 21 et 30 ans. Chaque volontaire a reçu une dose orale unique de BPS deutérée de 0,1 mg/kg de poids corporel (Correspondant à 7 mg pour un individu de 70 kg). Cette dose est 100 fois inférieure au niveau sans effet nocif observé (DSENO) pour une exposition subchronique (USEPA 1998).

La forme deutérée de bisphénol S a été utilisée pour éviter toute interférence potentielle avec les BPS provenant du régime alimentaire. Il s'agit du 4,4'-sulfonylbisphénol-d8, avec une pureté > 99%, une pureté isotopique > 98% et un poids moléculaire de 258.32 g/mol. Le BPS-d8 a été produit par la compagnie Toronto Research Chemicals (Toronto, Canada).

La dose administrée par voie orale à des volontaires (0,1 mg/kg pc), sous forme deutérée, est identique à celle utilisée auparavant dans une étude menée chez des volontaires exposés au BPA (0,1 mg/kg de BPA-d6 administré par voie orale) (Thayer et al. 2015). La DSENO a été établie à partir d'une étude de toxicité de 45 jours chez le rat adulte mâle exposé par voie orale au BPS. Pour la toxicité parentale, la dose de DSENO a été établie à 10 mg/kg de poids corporel et la dose minimale avec effet nocif observé (LOAEL) à 60 mg/kg de poids corporel/jour. Pour la toxicité sur la reproduction, des valeurs de DSENO et LOAEL de 60 et 300 mg/kg pc/jour ont été établies (USEPA). La dose administrée, qui est 100 fois inférieure à la DSENO, prend en compte un facteur d'incertitude interespèces (UFA) de 10 et un facteur d'incertitude interindividuelle (UFH) de 10.

Pour l'administration orale, le BPS-d8 a été dissout dans de l'éthanol (100 mg/mL, équivalent à 10 mg/100 µL) et la solution a été appliquée sur un biscuit (environ 70 µL de solution sur un biscuit pour un individu de 70 kg). L'éthanol déposé sur le biscuit a été laissé pendant 10 minutes pour permettre son évaporation, avant l'ingestion par chaque volontaire. Chaque participant a ensuite bu 100 mL d'eau.

Un mois après l'exposition orale, les volontaires ont été exposés par voie cutanée à une dose aiguë de BPS de 1 mg/kg de poids corporel. Il est important de noter qu'il n'existe actuellement aucune dose de référence recommandée pour une exposition cutanée. Des études sur la toxicocinétique du bisphénol A (BPA) chez les animaux et les humains ont estimé que la fraction d'absorption était de $8,6 \pm 2,1$ % dans des explants de peau humaine ($n = 7$) (Demierre et al. 2012). Pour établir la dose appliquée par voie cutanée, il a été considéré que l'absorption cutanée était <10 %, d'après l'étude de Demierre et al. (2012) et qu'elle était donc fixée 10 fois plus que la dose orale. Environ 48 heures avant l'application cutanée de BPS, il a été recommandé aux participants de s'épiler les poils de l'avant-bras en prenant soin de ne pas irriter la peau. La solution a ensuite été appliquée sur une zone de 40 cm² de l'avant-bras délimitée par un marqueur indélébile. Le BPS a été mis en suspension dans un tampon phosphate 0,1 M contenant 1 % de la carboxyméthylcellulose sodique à viscosité moyenne (100 mg/mL ou 100 µg/µL) (un gel synthétique utilisé contre la sécheresse oculaire et comme additif alimentaire, puis appliqué sous forme de gouttes. La zone traitée a été laissée exposée à l'air libre et non lavée

pendant une période de 6 h. Six heures après l'application, une lingette a été utilisée (Hines et al. 2017) pour nettoyer l'ensemble de la zone traitée. Le site d'application a ensuite été lavé à l'eau et au savon.

La durée d'application de 6 h a été choisie pour représenter la durée normale d'exposition d'un employé manipulant des reçus et pour prendre en compte les contraintes liées à la protection de la région d'application. Idéalement, il aurait été préférable d'appliquer BPS sur une main, qui est le principal site d'exposition, mais cela est difficilement réalisable. Lors de la modélisation biomathématique, la constante de perméabilité estimée à partir des données obtenues peut être ajustée pour tenir compte de la plus grande perméabilité de la peau de l'avant-bras par rapport à celle des mains. En outre, il a été décidé de ne pas obstruer la zone d'application afin d'empêcher le transfert du produit sur le matériau d'occlusion.

Le choix du domaine d'application (40 cm²) devait permettre l'application de 10 à 20 µL/cm² pour un poids corporel compris entre 50 et 70 kg, conformément aux recommandations de l'OCDE de 10 µL/cm² (OECD 2004). Cette suspension appliquée sur une surface de 40 cm² correspond à une dose appliquée de 1,25 à 2 mg/cm² (poids corporel compris entre 50 et 70 kg), ce qui correspond au même ordre de grandeur que la dose maximale recommandée par le USEPA (1998) de 1 mg/cm² pour assurer l'absence de saturation du processus d'absorption. Il est également du même ordre de grandeur que la dose d'exposition cutanée maximale estimée pour le BPA lors du traitement des reçus de caisse et déterminée à partir du coefficient de transfert maximal du BPA (21 522 ng/s) ainsi que de la surface cutanée des mains en contact avec les tickets (23,5 cm², soit 0,6 mg/cm²) (Bernier et Vandenberg 2017).

3.3 Prélèvement de sang et d'urine

Les évolutions temporelles du produit parental BPS-d8 et de son glucurono-conjugué BPSG-d8 dans le plasma ont été établies en effectuant des prélèvements sanguins en série sur le bras par ponction veineuse 30 min avant l'exposition (correspondant à un échantillon de contrôle) et sur une période de 48 h après l'exposition, soit 15 min, 30 min, 45 min, 1 h, 1 h 15, 1 h 30, 1 h 45, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h, 6 h, 8 h, 10 h, 24 h et 48 h après l'administration (n =

17 échantillons par personne). Afin de faciliter les prélèvements sanguins, un cathéter a été placé le premier jour du prélèvement. Le sang a été recueilli dans des tubes d'héparine.

Pour l'application cutanée, le cathéter a été installé au niveau de la veine ulnaire du bras controlatéral à celui sur lequel le BPS-d8 a été appliqué. Les échantillons ont été prélevés par des ponctions veineuses répétées à des heures fixées à l'avance. Un volume de 10 mL a été prélevé à chaque heure d'échantillonnage pour un total de 170 mL, ce qui est inférieur à un don de sang.

En outre, un deuxième prélèvement sanguin de 10 mL a été effectué sur certains participants de la veine ipsilatérale (en prenant soin de ne pas contaminer l'échantillon en contact avec le bras du patient) pour montrer l'impact du site de prélèvement sur les concentrations plasmatiques (durée 15 min 30 s min et 1 h).

Parallèlement, afin de documenter les temps d'excrétion urinaire de BPS-d8 et BPSG-d8, des mictions urinaires complètes ont été collectés dans des flacons Nalgene® distincts et clairement identifiés (groupe, individu, heure) à des périodes déterminées, à savoir une collecte nocturne avant exposition (-10 h-0 h) puis 0-2 h, 2-4 h, 4-6 h, 6-8 h, 8-10 h, 10-12 h, 12-14 h, 14-24 h, 24-48 h et 48-72 h après l'administration (n = 11 collectes par personne et toute l'urine évacuée au cours d'une période donnée a été combinée dans le même flacon). Les participants ont été invités à boire beaucoup d'eau le jour de l'exposition (1,5 L par jour) pour permettre des collectes d'urine fréquentes. Une bouteille d'eau de 1,5 L a été distribuée à chaque participant le premier jour d'échantillonnage.

3.4 Traitement et analyses des échantillons

18. Préparation de la dose d'exposition

- **Exposition orale**

Une solution stock de 100 mg/mL ou 10 mg de BPS/100 μ L d'éthanol a été préparée le jour de l'exposition. Pour s'assurer de l'homogénéité de la solution, une agitation pendant une heure et 30 minutes de sonication a été faite pour vérifier la dissolution complète du BPS dans l'éthanol. La solution a été ensuite conservée à la température de la pièce à l'obscurité. Les poids des volontaires ont été pris avant l'administration et les volumes de BPS à administrer ont été ajustés selon le poids corporel. La dose était de 0,1 mg/kg pc, alors la dose en mg pour un individu de 70 kg était de 7 mg (0,1 mg/kg x 70 kg). Le volume administré pour cet individu de 70 kg était donc de 70 μ L de la solution contenant 7 mg de BPS sur un biscuit. Après avoir déposé la solution sur les biscuits, ces derniers ont été laissés 10 minutes à l'air libre pour faire évaporer l'éthanol avant de les donner aux volontaires.

- **Exposition cutanée**

Pour le volet cutané, le BPS a été mis en solution en suspension dans une solution aqueuse contenant 1 % de carboxyméthylcellulose administrés sous forme de goutte. L'utilisation du carboxyméthylcellulose comme diluant est recommandée par U.S. EPA, car il ne modifie pas la perméabilité de la peau (USEPA 1998) Une solution stock de 100 mg/mL ou 10 mg de BPS/100 μ L carboxyméthylcellulose a été préparée le jour de l'exposition.

La dose était de 1 mg/kg pc, de sorte que la dose de BPS en mg pour un individu de 70 kg était de 70 mg (1 mg/kg pc x 70 kg). Le volume administré pour un individu de 70 kg était de 700 μ L.

19. Traitement des échantillons plasmatiques et urinaires

Immédiatement après le prélèvement, les échantillons de sang ont été conservés à 4 °C au réfrigérateur. Dans l'heure qui a suivi le prélèvement de sang, le plasma a été isolé par centrifugation des échantillons pendant 10 min à 3700 tr/min à 4 °C. Quatre parties aliquotes de

1 mL ont été préparées dans des tubes en polypropylène avec un bouchon à vis Fischer de 2 mL, puis les échantillons ont été congelés à -20 °C. Deux fractions aliquotes ont été expédiées à l'INRA de Toulouse sur glace carbonique aux fins d'analyse du BPS-d8 et du BPSG-d8.

Les échantillons d'urine ont été conservés au réfrigérateur à 4 °C immédiatement après le prélèvement du premier jour d'échantillonnage ou conservés dans des glacières avec des blocs réfrigérants par les participants jusqu'à leur transfert à l'Université. Les volumes d'urine ont été mesurés le jour de la collecte. Pour chaque échantillon, 3 aliquotes de 3 mL ont été préparées dans des tubes de 5 mL en polypropylène et une aliquote de 90 à 100 mL dans un récipient de 120 mL de Sarstedt. Les échantillons ont ensuite été congelés à -20 °C jusqu'à l'analyse. Des aliquotes ont été expédiées sur la glace carbonique pour analyse à l'INRA de Toulouse.

Le traitement et l'analyse des échantillons d'urine et du plasma ont été basés sur une modification d'une méthode décrite précédemment (Grandin et al. 2017; Grandin et al. 2018). Le BPS-d8 et BPSG-d8 ont été quantifiés simultanément par une chromatographie en phase liquide à ultra-haute performance couplée à une spectrométrie de masse en tandem (Acquity-2D UPLC® Xevo® TQ, Waters, Milford, MA, États-Unis) à la suite d'une extraction en phase solide en ligne, selon à une méthode validée conformément aux directives de l'Agence européenne des médicaments.

En bref, 100 µL d'échantillons de plasma ont été précipités avec 100 µL d'étalon interne d'acétonitrile/sulfate de zinc contenant du BPS-d4 (100 ng/mL). Des échantillons d'urine (100 µL) ont été dilués avec 200 µL du mélange susmentionné contenant un étalon interne à 1000 ng/mL. Les deux BPS-d8 et BPSG-d8 ont été extraites à l'aide d'une cartouche SPE en ligne C8 et séparées sur une colonne CSH C18 avec élution par gradient eau/acétonitrile. Les transitions de surveillance des réactions multiples (MRM) utilisées pour la quantification de BPS-d8 et BPSG-d8 étaient respectivement de 257> 112 et 433> 257. Des échantillons de blancs ont été utilisés pour vérifier l'absence de contamination lors des essais. Les précisions intra et inter journalières (évaluées par les coefficients de variation) de la méthode ont été évaluées à partir d'échantillons de contrôle de la qualité à trois niveaux de concentration. Les coefficients de variation étaient inférieurs à 15 % pour tous les niveaux de concentration et pour tous les analytes. Les limites inférieures de quantification (LLOQ) ont été validées à 0,05 et 0,5 ng/mL,

respectivement, pour le BPS-d8 et BPSG-d8 dans le plasma. Les LLOQ ont été validés dans l'urine à 0,5 ng/mL pour le BPS-d8 et à 5 ng/mL pour le BPSG-d8, respectivement.

3.5 Analyses toxicocinétiques

Les paramètres toxicocinétiques de base ont été déterminés par ajustement par la méthode des moindres carrés de l'algorithme suivant (équation 1) aux profils des concentrations plasmatiques et du taux d'excrétion urinaire de BPS-d8 et de BPSG-d8 à en fonction du temps après administration orale de BPS-d8, à l'aide d'une routine mathématique dans Matlab. Pour l'exposition cutanée, il y avait trop de valeurs indétectables pour permettre de telles déterminations. Après ingestion, il a été considéré qu'un équilibre dynamique était rapidement atteint entre les concentrations tissulaires et plasmatiques de BPS-d8 et de son métabolite BPSG-d8 (niveaux sanguin et tissulaire évoluant en parallèle), de sorte que le corps peut être représenté sous forme de modèle de compartiments avec élimination de premier ordre (Hayes). Nous avons également émis l'hypothèse que le BPS-d8, une fois dans l'organisme, était très rapidement conjugué pour former le BPSG-d8 (de l'ordre de quelques minutes par rapport aux heures nécessaires à son élimination).

$$C(t) = A e^{(-k_{abs.} t)} + B e^{(-k_{elim.} t)} \text{ (équation 1)}$$

Où $C(t)$ est la concentration plasmatique ou le taux d'excrétion urinaire en fonction du temps, A et B sont les coefficients préexponentiels et k_{abs} et k_{elim} sont les coefficients du taux hybride pour les phases d'absorption et d'élimination, respectivement. Les niveaux de temps jusqu'au pic (T_{max}) ainsi que l'absorption apparente ($\ln 2/k_{abs}$) et les demi-vies d'élimination ($\ln 2/k_{elim}$) ont également été déterminés. À partir des profils des concentrations plasmatiques (C) en fonction du temps, nous avons en outre calculé la version discrète de l'aire sous la courbe de concentration en temps (AUC), l'aire sous la courbe du premier moment de concentration (AUCM), le temps de séjour moyen (MRT), la clairance plasmatique apparente (CL), le volume de distribution apparent (Vd). Les équations utilisées pour calculer ces paramètres sont les suivantes :

$$AUC = \frac{1}{2} \sum_{\forall i} (t_i - t_{i+1}) [C(t_i) + C(t_{i+1})]$$

$$AUMC = \frac{1}{2} \sum_{\forall i} (t_i - t_{i+1}) [t_i C(t_i) + t_{i+1} C(t_{i+1})]$$

$$MRT = \frac{AUMC}{AUC}$$

$$CL = \frac{\text{Absorbed dose (fraction of administered dose)}}{AUC}$$

$$Vd = \frac{CL}{kelim}$$

Les estimations des limites inférieure et supérieure de la clairance plasmatique totale (CL) et du volume de distribution (Vd) ont été calculées en considérant que la dose absorbée correspond aux quantités totales récupérées dans l'urine ou égales à la dose d'exposition (c.-à-d. une fraction d'absorption de 1), respectivement. Il existe donc des incertitudes quant à ces valeurs, étant donné qu'elles devraient normalement être dérivées d'une injection intraveineuse, ce qui n'est pas possible chez l'Homme.

3.6 Considérations éthiques

Toute étude clinique portant sur des participants humains vivants ou décédés, des embryons, des cellules souches humaines, peu importe leur thématique, doit être obligatoirement présentée à un comité d'Éthique de la recherche dans le but de défendre le protocole et d'avoir l'accord pour commencer l'étude (Énoncé de politique des trois Conseils, 2014). Le protocole de l'étude a été soumis le 7 novembre 2017 au Comité d'éthique de la recherche clinique de l'Université de Montréal (CERC). Après avoir l'approbation du CERC (numéro de certificat 17-153-CERES-P), les personnes recrutées pour participer à l'étude étaient informées de toutes les informations nécessaires concernant le projet d'une façon simplifiée et claire. Un formulaire de consentement et d'information a été fourni à toutes les participantes de l'étude. Ce document a été signé par les volontaires pour confirmer leur consentement à participer à l'étude clinique.

4 Article

Toxicokinetics of bisphenol-S and its glucuronide in plasma and urine following oral and dermal exposure in volunteers for the interpretation of biomonitoring data

Imèn Khmiri^a, Jonathan Côté^a, Marc Mantha^a, Rania Khemiri^a, Marlène Lacroix^b, Clémence Gely^{b, d}, Pierre-Louis Toutain^{b, c}, Nicole Picard — Hagen^d, Véronique Gayrard^d, Michèle Bouchard^{a,*}

^a Department of Environmental and Occupational Health, Chair in Toxicological Risk Assessment and Management, and Public Health Research Center (CReSP), University of Montreal, Roger-Gaudry Building, U424, P.O. Box 6128, Main Station, Montreal, Quebec, Canada, H3C 3J7

^b INTHERES, Université de Toulouse, INRA, ENVT, Toulouse, France

^c The Royal Veterinary College, University of London, London, United Kingdom.

^d ToxAlim (Research Centre in Food Toxicology), Université de Toulouse, INRAE, ENVT, INP-Purpan, UPS, Toulouse, France

* Correspondence to:

Michèle Bouchard
Department of Environmental and Occupational Health
University of Montreal
Roger-Gaudry Building, U424
P.O. Box 6128, Main Station, Montreal, Quebec, Canada, H3C 3J7.
E-mail : michele.bouchard@umontreal.ca
Telephone number: (514) 343-6111 ext 1640
Fax number: (514) 343-2200

4.1 Abstract

The measurement of bisphenol-S (BPS) and its glucurono-conjugate (BPSG) in urine may be used for the biomonitoring of exposure in populations. However, this requires a thorough knowledge of their toxicokinetics. The time courses of BPS and BPSG were assessed in accessible biological matrices of orally and dermally exposed volunteers. Under the approval of the Research Ethics Committee of the University of Montreal, six volunteers were orally exposed to a BPS-d8 deuterated dose of 0.1 mg/kg body weight (bw). One month later, 1 mg/kg bw of BPS-d8 were applied on 40 cm² of the forearm and then washed 6 h after application. Blood samples were taken prior to dosing and at fixed time periods over 48 h after treatment; complete urine voids were collected pre-exposure and at pre-established intervals over 72 h postdosing. Following oral exposure, the plasma concentration-time courses of BPS-d8 and BPSG-d8 over 48 h evolved in parallel, and showed a rapid appearance and elimination. Average peak values (\pm SD) were reached at 0.7 ± 0.1 and 1.1 ± 0.4 h postdosing and mean (\pm SD) apparent elimination half-lives ($t_{1/2}$) of 7.9 ± 1.1 and 9.3 ± 7.0 h were calculated from the terminal phase of BPS-d8 and BPSG-d8 in plasma, respectively. The fraction of BPS-d8 reaching the systemic circulation unchanged (*i.e.* bioavailability) was further estimated at $62 \pm 5\%$ on average (\pm SD) and the systemic plasma clearance at 0.57 ± 0.07 L/kg bw/h. Plasma concentration-time courses and urinary excretion rate profiles roughly evolved in parallel for both substances, as expected. The average percent (\pm SD) of the administered dose recovered in urine as BPS-d8 and BPSG-d8 over the 0-72 h period postdosing was 1.72 ± 1.3 and 54 ± 10 %. Following dermal application, plasma levels were under the lower limit of quantification (LLOQ) at most time points. However, peak values were reached between 5 and 8 h depending on individuals, suggesting a slower absorption rate compared to oral exposure. Similarly, limited amounts of BPS-d8 and its conjugate were recovered in urine and peak excretion rates were reached between 5 and 11 h postdosing. The average percent (\pm SD) of the administered dose recovered in urine as BPS-d8 and BPSG-d8 was about 0.004 ± 0.003 and 0.09 ± 0.07 %, respectively. This study provided greater precision on the kinetics of this contaminant in humans and, in particular, evidenced major differences between BPA and BPS kinetics with much higher systemic levels of active BPS than BPA, an observation explained by a higher oral bioavailability of BPS than BPA. These data should also be useful in developing a toxicokinetic model for a better interpretation of biomonitoring data.

Keywords: Bisphenol S, Bisphenol S glucuronide, biomarkers of exposure, oral exposure, cutaneous exposure.

4.2 Introduction

Bisphenol S, bis(4-hydroxyphenyl) sulfone (BPS), is a substance synthesized from the sulfonation of phenols (Johannes 2014). It is ubiquitous in the environment (Liao et al. 2012a; Wan et al. 2018). BPS was synthesized for the first time in 1869, and it began to be used as a substitute to its analogue bisphenol A (BPA) in the years 2000s (Glausiusz 2014). BPS has a widespread commercial and consumer use. BPS is used as an intermediate for the production of epoxy resins and polycarbonate plastics; it is present in a variety of industrial products (*e.g.* cleaning products), food (*e.g.* meat, dairy products) and personal care products (*e.g.* body and hair products) (Rochester and Bolden 2015; Viñas et al. 2010). It is also used as a developer in thermal papers (tickets), providing thermosensitive properties (ANSES 2013). The general population can therefore be exposed through ingestion of contaminated food but also dermal contact (Chen et al. 2016; Wu et al. 2018).

Given that BPA has been shown to have endocrine disrupting properties, some authors have also assessed the estrogenic potencies of BPS *in vitro* and *in vivo* in animals (Chen et al. 2016; Rochester and Bolden 2015). As observed for BPA, the latter reviews highlight that BPS is hormonally active, showing estrogenic activities in rats, zebrafish and *Daphne magna in vivo*, and oestrogenic and antiandrogenic potencies *in vitro*. Furthermore, according to Kojima et al. (2019), BPS showed agonist activities for human estrogen receptors (ER α and ER β) in the same order of magnitude as BPA. In an *in vivo* study in female rats, Ahsan et al. (2018) also showed that BPS altered estrus cycle and ovarian function and development.

According to metabolism studies in animals, BPS is readily conjugated to glucuronides once absorbed in the body, similar its BPA analogue. Free BPS is considered the active moiety, while the detoxification product BPS-glucuronide (BPSG) has been documented to be the main compound excreted in urine (Gayrard et al. 2019b; Grandin et al. 2018). In humans, there is a growing body of literature on exposure to BPS in the general population, as assessed from measurements of BPS and BPSG in accessible matrices (Frederiksen et al. 2020; Ghayda et al. 2019; Husøy et al. 2019; Lehmler et al. 2018; Liao et al. 2012a; Liu et al. 2017; Ndaw et al. 2018; Philips et al. 2018; Wan et al. 2018; Ye et al. 2015). In particular, Liao et al. (2012a) was the first study to report BPS levels in the general population; they showed that total BPS (the sum of free and glucurono-conjugated BPS) was detectable in 81% of spot urine samples ($n = 315$)

collected in Americans and Asians (Chinese, Indians, Japanese, Korean, Kuwait, Malaysian and Vietnamese) aged 2 to 84 years old, with geometric mean concentrations of 0.168 $\mu\text{g/L}$ (range of LOQ of 0.02 to 21 $\mu\text{g/L}$). Liu et al. (2017) also measured total BPS in 61 paired maternal and cord blood samples from the Chinese population. Although total BPS was detectable only in 4 maternal and 7 cord blood samples, with a range of <0.03 to 0.07 $\mu\text{g/L}$, this study showed that BPS can cross the human placenta. More recently, Ndaw et al. (2018) measured total BPS in pre- and post-shift urine samples and first morning void of 17 French cashiers and 15 controls; they found that concentration values were significantly higher in cashiers compared to controls (geometric mean (range) of 2.48 (0.1-28.4 $\mu\text{g/L}$) versus 0.72 $\mu\text{g/L}$ (<LOQ of 0.1-229 $\mu\text{g/L}$)). Lehmler et al. (2018) analyzed total BPS concentrations in spot urine samples of children (n = 868) and adults (n = 1808) participating in the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2013-2014; total BPS was detected in 89.4% of samples with median concentration of 0.37 $\mu\text{g/L}$ in adults (interquartile of 0.14–0.88 $\mu\text{g/L}$) and 0.29 (0.12–0.70) $\mu\text{g/L}$ in children. In a prospective cohort of Netherland females enrolled during early pregnancy (n = 1396), Philips et al. (2018) reported a detection rate of total BPS of 67.8% in spot urine samples collected in 2004-2005 and median concentrations of 0.36 $\mu\text{g/L}$ (interquartile of 0.17–1.08 $\mu\text{g/L}$), similar to results in NHANES participants. Ghayda et al. (2019) also documented semen and urinary concentrations of total BPS in 158 men enrolled in a prospective cohort in Massachusetts (USA) and seeking fertility treatment from 2011 to 2017, and reported a 76% detection rate (>0.1 $\mu\text{g/L}$) from 338 urine samples, a geometric mean of 0.37 $\mu\text{g/L}$ and interquartile of 0.2 to 0.9 $\mu\text{g/L}$.

To be able to interpret biomonitoring data, it is important to have information on the toxicokinetics of the biomarkers of exposure of interest. While the toxicokinetics of BPA has been largely documented in humans (Fisher et al. 2011; Teeguarden et al. 2015; Thayer et al. 2015), only a limited number of human toxicokinetic studies of BPS has been performed to date (Liu and Martin 2019; Oh et al. 2018). Some animal studies have also been conducted (Gayrard et al. 2019b; Gingrich et al. 2019; Gingrich et al. 2018; Grandin et al. 2018). The determination of the toxicokinetics of BPS and its glucurono-conjugate BPSG in humans is important given the potential animal-to-human differences in the kinetics. Oh et al. (2018) documented the time courses of BPS (free BPS and total BPS) in the plasma and urine of seven male and female Korean volunteers from Seoul orally exposed to 8.75 $\mu\text{g BPS-d4/kg}$ body weight (bw). In this study, BPSG was not directly measured; it was rather derived from the difference between

unconjugated BPS analyzed without enzymatic hydrolysis and the sum of unconjugated and glucurono-conjugated BPS (and possibly sulfo-conjugates) measured after enzymatic hydrolysis with β -glucuronidase solution with some arylsulfatase activity. (Karrer, 2018 #21@@author-year) developed a physiologically-based pharmacokinetic model for BPA and extrapolated it to its analogs including BPS by i) determining chemical-specific partition coefficients (tissue-to-serum) with a quantitative structure-activity relationship (QSAR) approach and ii) metabolism parameters with an *in vitro* assessment of glucuronidation of BPS in human liver and intestinal microsomes. The model was then calibrated with the data of Oh et al. (2018). Some model adjustments had to be made to obtain a good fit to the available human kinetic data; according to these authors, the modeled higher plasma concentrations of unconjugated BPS after peroral exposure might be explained by a low glucuronidation rate.

The objective of the present work was to conduct a clinical study to compare, within a same framework, the kinetic profiles of unconjugated BPS and its specifically quantified BPSG conjugation product in female volunteers of childbearing age exposed orally and dermally to deuterated BPS (BPS-d8) in controlled conditions. This study aimed to further contribute to provide basic kinetic data that can serve to develop a human toxicokinetic model allowing reconstruction of absorbed doses from biomarkers measurements of specifically measured BPS and BPSG in vulnerable populations, such as pregnant women.

4.3 Materials and methods

20. Study design and ethics approval

A clinical study was conducted to document the kinetics of BPS and its glucurono-conjugate BPSG specifically in plasma and urine of female subjects of childbearing age following a single oral and dermal exposure to BPS. The same volunteers (with the exception of three individuals) were exposed orally and then dermally one month later, to ensure complete elimination of the compound between exposures. The study protocol and consent form were approved by the Clinical Research Ethics Committee (CERES) of the University of Montreal prior to study onset (certificate number 17-153-CERES-P). Each participant gave its written consent to participate, was informed of the risks of participating and its right to withdraw from

the study at any time. Each participant received a monetary compensation for its time. Volunteers spent the first sampling day at the University for blood and urine sampling and were then asked to return the next three mornings for a blood sampling and to return urine samples. Two accredited nurses were present during the whole study period, performed blood sampling and monitored signs and symptoms.

21. Volunteers and dosing

Eight adult female volunteers – in good health, aged between 21 and 30 years old and weighing between 55.5 and 88.9 kg (mean of 65.5 kg) – were recruited on a voluntary basis, seven of which participated in the oral exposure and six in the dermal application. Each of seven volunteers was administered a single oral dose of BPS-d8 (4,4'-sulfonylbisphenol-d8, purity >99%, isotopic purity >98%, MW of 258.32 g/mol, Toronto Research Chemicals, Toronto, Canada) of 0.1 mg/kg of body weight (bw) (corresponding to 7 mg for an individual of 70 kg or 0.39 $\mu\text{mol/kg}$ bw). The dose administered orally to volunteers, in the deuterated form, is identical on a mass basis to that previously used in a kinetic study in volunteers exposed orally to BPA (0.1 mg/kg BPA-d6) and close on a molar basis (0.43 $\mu\text{mol/kg}$ bw) (Thayer et al. 2015).

This dose is 100 times lower than the No-Observed Adverse Effect Level (NOAEL) for a subchronic exposure (USEPA, 2014 #45). The NOAEL was established from a 45-day toxicity study in adult male rats orally exposed to BPS. For the parental toxicity, the NOAEL dose was established at 10 mg/kg bw and the Lowest-Observed-Adverse-Effect-Level (LOAEL) dose was established at 60 mg/kg bw/day. For the reproductive toxicity, NOAEL and LOAEL values of 60 and 300 mg/kg bw/day were established (USEPA, 2014 #45). In the present study, the dose administered, which is 100 times lower than the NOAEL, considers an inter-species uncertainty factor (UF_A) of 10 and interindividual uncertainty factor (UF_H) of 10.

For the oral administration, BPS-d8 was dissolved in ethanol (100 mg/mL equivalent to 10 mg/100 μL) and the solution was applied on a cookie (70 μL of solution on a cookie for a 70-kg individual). The ethanol deposited on the cookie was left to evaporate for 10 minutes prior to ingestion by each volunteer. Each participant then drank 100 mL of water.

One month after the oral exposure, volunteers were exposed dermally to an acute dose of BPS of 1 mg/kg bw. It is important to note that there is currently no recommended reference dose for dermal exposure. Studies on the toxicokinetics of bisphenol A (BPA) in animals and humans estimated that the absorption fraction was $8.6 \pm 2.1\%$ in human skin explants ($n = 7$) (Demierre et al. 2012). To establish the dermally applied dose, it was considered that dermal absorption was $<10\%$, based on the study by Demierre et al. (2012) and therefore it was set 10 times higher than the oral dose. About 48 h before dermal application of BPS, participants were recommended to remove hair on their forearm while taking care not to irritate the skin. The solution was then applied to an area of 40 cm² of the forearm delimited by an indelible marker. BPS was suspended in a 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4) containing 1% sodium carboxymethylcellulose of medium viscosity (100 mg/mL or 100 µg/µL) (a synthetic gel used against dry eye and as a food additive) and applied as drops (700 µL for an individual of 70 kg). The treated area was left uncovered and unwashed for a period of 6 h. After 6 h of dermal contact, a wipe was used (Hines et al 2017) to clean the entire application area. The application site was then washed with soap and water. The duration of application of 6 h was chosen to represent the normal duration of exposure of an employee handling receipts and to take into account the constraints related to protecting the application area. Furthermore, it was decided not to occlude the application area to prevent the transfer of the product on occlusion material.

22. Blood and urine sampling

The time-courses of the parent product BPS-d8 and its glucurono-conjugate BPSG-d8 in plasma were established by performing serial blood sampling by venipuncture on the arm 30 min before exposure (corresponding to a control sample) and at fixed time periods over 48 h following exposure, *i.e.* at 15 min, 30 min, 45 min, 1 h, 1 h 15, 1 h 30, 1 h 45, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h, 6 h, 8 h, 10 h, 24 h and 48 h post-dosing ($n = 17$ samples per individual). In order to facilitate blood sampling, a catheter was placed during the first sampling day. Blood was collected in heparin tubes.

For the cutaneous application, the catheter was installed at the level of the ulnar vein of the arm contralateral to that on which the BPS-d8 was applied. Samples were taken by repeated

venous punctures at previously fixed times. A volume of 10 mL was taken at each sampling time for a total of 170 mL, which is less than a donation of blood.

In parallel, in order to document the urinary excretion time courses of BPS-d8 and BPSG-d8, complete urine voids were collected in separate and clearly identified Nalgene® bottles (group, individual, time) at fixed periods, namely a nocturnal collection before exposure (-10h-0h) and 0-2 h, 2-4 h, 4-6 h, 6-8 h, 8-10 h, 10-12 h, 12-14 h, 14-24 h, 24-48 h and 48-72 h post-administration (n = 11 collections per individual and all urine voided during an established period was combined to the same bottle). Participants were asked to drink plenty of water on the day of exposure (1.5 L per day) to allow frequent urine collections. A 1.5 L bottle of drinking water was given to each participant on the first sampling day.

23. Treatment of samples and analysis

Immediately after collection, blood samples were stored at 4°C in the refrigerator. Within the hour following blood withdrawal, plasma was isolated by centrifuging samples for 10 min at 1500 g at 4°C. Four aliquots of 1 mL were prepared in polypropylene tubes with Fischer screw cap of 2 mL and then samples frozen at -20 °C. Two aliquots were shipped on dry ice at INRA in Toulouse for analysis of BPS-d8 and BPSG-d8.

Urine samples were stored in the refrigerator at 4°C immediately after collection the first day of sampling or kept in coolers with ice packs afterwards by participants until they were brought to the University. Urine volumes were measured the day of collection. For each sample, 3 aliquots of 3 mL were prepared in 5 mL polypropylene tubes and 1 aliquot was prepared of 90-100 mL in a 120 mL Sarstedt container. Samples were subsequently frozen at -20°C until analysis. Aliquots were shipped on dry ice for analysis at INRA in Toulouse.

Plasma and urine samples were assayed with an on-line solid phase extraction (Molina-Molina et al.) ultra-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (Acquity-2D UPLC® Xevo® TQ, Waters, Milford, MA, USA). BPS-d8, BPSG-d8, BPSG (used as internal standard) were purchased from Toronto Research Chemicals and BPS was obtained from Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All these standard purities were higher than 97% and

isotopic purities were higher than 98%. Urine samples collected after oral administration were simultaneously quantified according to the method previously validated and published (Grandin et al. 2017; Grandin et al. 2018). Briefly, 100 μ L of urine samples were diluted with 200 μ L of acetonitrile/zinc sulfate containing BPS and BPSG as internal standard (100 ng/mL and 1000 ng/mL). The centrifuged mixture was loaded onto the on-line C8 cartridge for clean-up, separated on a CSH C18 column (Acquity 100 x 2.1, 1.7 μ m, Waters) and detected in negative electrospray ionization (ESI-) using multiple reaction monitoring (MRM) mode. The urine samples collected after dermal administration and all the plasma samples were assayed as described in a previous study with minor modifications (Rancière et al., 2019). Briefly, samples were extracted on ion exchange SPE cartridges (HR-XAW, Macherey Nagel, Hoerdt, France) and labelled with dansyl chloride. The dansylated BPS-d8 and BPSG-d8 were loaded onto the on-line C8 SPE cartridge and separated on a Phenyl Hexyl column (Acquity 100 x 2.1 mm; 1.7 μ m, Waters) with a water/acetonitrile gradient (both eluents containing 0.1% formic acid) [0,3 mL/min, 40 $^{\circ}$ C]. Analytes were detected by mass spectrometry after electrospray ionization in positive mode. The MRM transitions used for the quantification of dansylated BPS-d8 and BPSG-d8 were 725 > 171 and 668 > 171, respectively (see Table S1 for structures and fragmentations). The method was validated in plasma according to the European Medicine Agency Guidelines from 0.05 to 10 ng/mL (*i.e.* 0.2 to 39 nM) for BPS-d8 using a linear model weighted by 1/X (X=concentration) and from 0.5 to 100 ng/mL (*i.e.* 1.15 to 230 nM) for BPSG-d8 using a linear model weighted by 1/X². Blank samples were used to check the absence of contamination during assays. The accuracy and the intra- and inter-day precisions (assessed by the coefficients of variation, CV%) of the method were evaluated from quality control samples at three concentration levels (0.08, 0.8 and 8 ng/mL). The CV% were below 17% for BPS-d8 and 9% for BPSG-d8 with accuracy ranging from 80% to 96% for both molecules. The lower limits of quantification (LLOQ) were estimated in plasma at 0.05 and 0.5 ng/mL (*i.e.* 0.2 and 1.15 nM) and in urine at 0.5 and 5 ng/mL (*i.e.* 2 and 11.5 nM) for BPS-d8 and BPSG-d8, respectively. The LLOQ values were determined with 5 replicates at the lowest concentration that can be quantified with an accuracy ranging from 80% to 120% and an intraday precision lower than 20%. The limits of detection were estimated at 0.02 and 0.14 ng/mL (*i.e.* 0.08 nM and 0.32 nM) in plasma for BPS-d8 and BPSG-d8, respectively.

24. Toxicokinetic analysis

Following ingestion, the plasma concentration-time courses of BPS-d8 and BPSG-d8 showed three phases, a phase of appearance in plasma followed by a biexponential decrease in concentrations. The different rate constants for each of the three phases were determined by least-square fit adjustments of the following general function (equation 1) to observed individual plasma concentration-time profiles of BPS-d8 and BPSG-d8 following oral administration of BPS-d8, by using “curve fitting” tool in Matlab. Apparent appearance and biphasic elimination phases were represented by:

$$C(t) = A e^{-\alpha t} + B e^{-\beta t} + C e^{-\gamma t} \text{ (equation 1)}$$

where i) $C(t)$ is the plasma concentration as a function of time; ii) A , B and C are the preexponential coefficients; iii) α , β and γ are the hybrid rate coefficients for the three phases. Apparent half-life ($t_{1/2}$) values were calculated using the equation $t_{1/2} = 0.693/k$ where $k = \alpha$, β or γ (Hayes 2007). For the cutaneous exposure, there were too many undetectable values to allow such determinations.

From plasma concentration (C) — time profiles after oral exposure, other calculated parameters include maximal concentration (C_{max}), time-to-peak levels (T_{max}), the discrete version of the area under the concentration-time curve (AUC), the area under the first moment of concentration-time curve ($AUMC$), the mean residence time (MRT), the apparent oral clearance (Cl_{oral}), estimated bioavailability (F) and the systemic plasma clearance (Cl_{plasma}) (Gibaldi and Perrier 1982; Hayes 2007; Weiss 1990). Equations used to calculate these parameters are:

$$AUC_{oral} = \frac{1}{2} \sum_{\forall i} (t_i - t_{i-1}) [C(t_i) + C(t_{i-1})]$$

$$AUMC_{oral} = \frac{1}{2} \sum_{\forall i} (t_i - t_{i-1}) [t_i C(t_i) + t_{i-1} C(t_{i-1})]$$

$$MRT_{oral} = \frac{AUMC_{oral}}{AUC_{oral}}$$

$$Cl_{oral} = \frac{Dose}{AUC_{oral}}$$

where Dose is the administered dose.

Bioavailability (fraction of BPS-d8 reaching the systemic circulation unchanged) was indirectly estimated from Cl_{oral} using the following equation (Gibaldi and Perrier, 1982):

$$F = \frac{Q}{Q + Cl_{oral}}$$

where Q is the hepatic blood flow rate (considered here at 25 mL/kg bw/min).

This equation assumes that first pass metabolism only occurs in the liver (*i.e.* no metabolism in the gastrointestinal tract) and that BPS-d8 is completely absorbed from the gut lumen after oral dose (*i.e.* that the oral absorption fraction f_{abs} is 1; not to be confused with the bioavailability), given that by default $F = 1 - ER$, where ER is the extraction ratio due to first-pass metabolism.

The systemic plasma clearance was therefore deduced from BPS-d8 bioavailability and according to Gibaldi and Perrier (1982) and Weiss (1990) as follows:

$$Cl_{plasma} = \frac{F \times Dose_{oral}}{AUC_{oral}} = F \times Cl_{oral} = \frac{Q}{\frac{Q}{Cl_{oral}} + 1} = \frac{Q}{\frac{AUC_{oral} \times Q}{Dose_{oral}} + 1}$$

With an absorption fraction <1, lower Cl_{plasma} values would be obtained.

4.4 Results

25. Time courses of BPS-d8 and BPSG-d8 in plasma after oral administration

The concentration-time courses of BPS-d8 and BPSG-d8 in plasma over a 48-h period following oral administration of 0.1 mg/kg bw of BPS-d8 in volunteers are presented in Figure 1 (and Figure S1). Calculated toxicokinetic parameters determined from the plasma concentration-time courses are compiled in Tables 1 and 2. While BPSG-d8 was found in higher concentrations than BPS-d8 (roughly 2-fold based on peak levels), it is readily apparent that the plasma profiles of BPS-d8 and BPSG-d8 over 48 h evolved in parallel, and showed rapid appearance and elimination phases. Apparent appearance rates (mean \pm SD) calculated from the time courses of BPS-d8 and BPSG-d8 were 2.3 ± 2.3 and 1.4 ± 2.3 h⁻¹ (translating into $t_{1/2\alpha}$ of 0.3 ± 0.3 and 0.5 ± 0.3 h), respectively. Average peak values (\pm SD) were reached at about the same time for both compounds, that is at 0.7 ± 0.1 and 1.1 ± 0.4 h postdosing, respectively. From the terminal phase of BPS-d8 and BPSG-d8 in plasma, average (\pm SD) apparent elimination half-lives ($t_{1/2\gamma}$) of 7.9 ± 1.1 and 9.3 ± 7.0 h were calculated, respectively. Similarities in the time courses of BPS-d8 and BPSG-d8 in plasma (appearance and elimination rates) are also reflected by the same calculated mean residence time (MRT) value of both compounds (as calculated from $\frac{AUMC}{AUC}$). The fraction of BPS reaching the systemic circulation unchanged (*i.e.* bioavailability) was further calculated at $62 \pm 5\%$ on average (\pm SD) (with an Cl_{oral} of 0.94 ± 0.19 L/kg bw/h) and the systemic plasma clearance was estimated at 0.57 ± 0.07 L/kg bw/h. Furthermore, from the individual time-courses of BPS-d8 and BPSG-d8 in plasma, the curve showing small plasma peak concentrations around 4-10 h is compatible with an enterohepatic recirculation (see supplementary Figure S1).

26. Time courses of BPS-d8 and BPSG-d8 in urine after oral administration

The time courses of BPS-d8 and BPSG-d8 excretion rate in the urine of volunteers over the 72-h period following ingestion of 0.1 mg/kg bw of BPS-d8 are depicted in Figure 2. Urinary excretion rate profiles appeared to evolve in parallel for both substances and were similar to plasma profiles, as expected.

The time courses of BPS-d8 and BPSG-d8 cumulative excretion over the 72-h period post-administration were also derived (Fig. 3 and Fig. S2). Although the urinary excretion time courses of BPS-d8 and BPSG-d8 were similar, BPSG-d8 was present in ≈ 30 -times higher amounts than BPS-d8. The average percent (\pm SD) of the administered dose recovered in urine as BPS-d8 and BPSG-d8 over the 0-72 h period postdosing was 1.72 ± 1.3 and 54 ± 10 %, respectively (with a range of 0.6-4.4 and 37-72%, respectively; Table 1). Urinary excretion appears near complete after 72 h (asymptote being reached at 72 h).

27. Time courses of BPS-d8 and BPSG-d8 in plasma after cutaneous application

The individual time courses of BPS-d8 and BPSG-d8 in plasma over a 48-h period following the onset of a 6-h cutaneous application of 1 mg/kg bw of BPS-d8 in volunteers are displayed in Table S2. Values were under the lower limit of quantification (LLOQ) for most time points such that average time course were not reported. With such low levels, it was not possible to determine toxicokinetic parameters, as was done for oral exposure. Nevertheless, an increase in plasma levels of both compounds was detectable from individual profiles and peak values were reached between 5 and 8 h depending on individuals, which is close to the time of cleaning of the treated area. BPSG-d8 was also found in somewhat higher molar concentrations than BPS-d8 (roughly 2- to 9-fold at peak levels).

28. Time courses of BPS-d8 and BPSG-d8 in urine after cutaneous application

In line with blood profiles, limited amounts of BPS-d8 and its conjugate were recovered in urine after cutaneous application and peak excretion rates were reached between 5 and 11 h postdosing depending on the volunteer while mean value shows a peak at 1 h (Fig. 4). BPSG-d8 appears to be excreted somewhat more slowly than BPS-d8 over the 72-h collection period, but again values were close to the LLOQ, such that this should be interpreted with caution. The cumulative excretion time courses of BPS-d8 and BPSG-d8 show that BPSG-d8 is excreted in about 20-times higher amounts than BPS-d8, and that excretion is not totally complete after 72 h (lack of asymptote) at least for part of the volunteers (Fig. 5 and Fig. S3). The average percent (\pm

SD) of the administered dose recovered in urine as BPS-d8 and BPSG-d8 was about 0.004 ± 0.003 and 0.09 ± 0.07 %, respectively. This suggests a rather low relative bioavailability by the cutaneous route when compared to the oral route.

4.5 Discussion

29. Toxicokinetics of BPS in humans after oral exposure

There are limited data on the toxicokinetics of BPS to date. This is the first study to document the toxicokinetics of BPS and BPSG specifically following dermal and oral exposure in volunteers within a same experimental framework, and complements the available oral kinetic data of Oh et al. (2018) and dermal data of Liu and Martin (2019). Female volunteers of childbearing age were chosen for our study, given that the acquired data aimed to serve, in a next step, for the development of a human toxicokinetic model allowing reconstruction of absorbed doses from measurements of BPS and BPSG in the plasma and/or urine of vulnerable populations, such as pregnant women. Deuterated compound was administered (BPS-d8) to ensure that measured levels in plasma and urine were not partially due to a body burden resulting from environmental exposure to BPS (Andra et al. 2016; Thayer et al. 2015). Oh et al. (2018) recently documented the plasma and urinary time courses of unconjugated and total BPS; BPSG levels were estimated by the difference between total BPS and unconjugated BPS levels. In the current work, BPS-d8 and BPSG-d8 were quantified specifically by UHPLC-MS-MS.

Plasma profile and urinary rate time course obtained in our study after oral exposure to a single low-dose show the rapid appearance of BPS in plasma and elimination from the body of volunteers (elimination $t_{1/2}$ from the terminal phase in plasma of ≈ 7.9 -9.3 h on average), mainly in the conjugated form (see Table 1 and Figs. 1 and 2). The similar apparent initial rate of BPS-d8 and BPSG-d8 after oral exposure suggests that both forms reach the systemic bloodstream at about the same time period, indicative of a rapid conjugation of BPS-d8 in intestines/enterocytes or liver prior to reaching the systemic circulation (first-pass effect). This has also been suggested from toxicokinetic studies of BPS in pigs (Gayraud et al. 2019b), but also by Karrer et al. (2018) who developed a physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) model for BPA and adapted the model to other analogues, such as BPS. These authors suggest that first-pass glucuronidation occurs mainly in the liver rather than in enterocytes.

The elimination time course of BPSG-d8 in plasma after oral exposure was also similar to that of BPS-d8 (see Fig. 1 and Tables 1 and 2). The observed plasma kinetic features further suggest that the most important contribution to the overall elimination rate of BPS from blood is phase II conjugation to form more polar moieties, given the very small levels of unconjugated

compound in urine. On the other hand, elimination of BPSG through excretion contributes mainly to BPSG overall clearance from blood. Furthermore, the observed time profiles of BPS-d8 and BPSG-d8 in plasma (behaviour at 6-10 h in particular) is indicative of a significant entero-hepatic recycling as was reported in rats (Gayrard et al. 2019b) and from the modeling of BPA in humans (Karrer et al. 2018). Although bisphenol conjugates are rapidly formed, the high levels of β -glucuronidase and arylsulfatase in tissues such as the liver, kidneys and placenta should allow deconjugation to the active unconjugated form, and in the case of intestines bacterial enzymes favors reabsorption from the gut lumen (Andra et al. 2016; Beaud et al. 2005; Danovitch and Laster 1969; Parkinson et al. 2012).

From the plasma-concentration time course in volunteers of our study, a systemic plasma clearance (Cl_{plasma}) of BPS of 0.57 ± 0.07 L/kg bw/h and an oral bioavailability of $62 \pm 5\%$ were estimated (see Table 2), provided that the following two assumptions are met: *i*) oral absorption of BPS was total and *ii*) BPS is only eliminated by hepatic metabolism, which is consistent with a very low renal clearance of BPS. The plasma clearance as obtained in the current study is rather close to the human plasma clearance value of 0.79 L/kg bw/h inferred by allometric extrapolation from toxicokinetic data in rats, ewes and piglets (Gayrard et al. 2019b), thus confirming these results.

In our study, the total percentage of the administered molar dose recovered in urine as unconjugated BPS-d8 following oral exposure was similar to that observed in the study of Oh et al. (2018), with a range of 0.6 to 4.4% in our study compared to 0.9 to 3.3% in female volunteers of the study of Oh et al. (2018), indicating that the renal clearance of unconjugated BPS-d8 was low. However, with regard to cumulative excretion of BPSG-d8 in urine, somewhat lower excretion values were found in volunteers of our study. More specifically, our individual results show that 37 to 72% of the administered oral dose were recovered in urine as BPSG-d8 over the 0-72 h collection period postdosing, depending on the volunteers; when excluding the volunteer with the lowest cumulative excretion in urine, the observed total urinary excretion ranged between 51 and 72%, suggesting that clearance of BPS-d8 is mainly driven by its glucuronidation. In the study of Oh et al. (2018), the reported total percentage of the oral dose recovered in urine as BPSG (total BPS minus unconjugated BPS) varied between 59 and 77% in the female participants ($n = 3$), with a mean value of 70%, *i.e.* in the same order of magnitude as

that observed in our study. In the male participants of that study, corresponding range of values was 67-104%, with a mean of 92% (n = 4). Differences between our results and those of Oh et al. (2018) may partly be explained by the fact that the latter account for BPS conjugated to sulfates (even if reported sulfatase enzyme activity was low), given that conjugated BPS was estimated by the difference between total BPS and unconjugated BPS. In our work, the glucurono-conjugate was rather measured specifically. Other studies in the general population confirmed the presence of sulfate conjugates of bisphenol analogues in urine (Andra et al. 2016; Gerona et al. 2016; Liao and Kannan 2012; Liu and Martin 2019), and there is a known polymorphism between men and women in uridine-diphosphate (UDP)-glucuronosyltransferase (UGTs), in addition to ethnical variations (Gallagher et al. 2010; Iwai et al. 2004; Kojima and Degawa 2014; Lampe et al. 2000; Mazur et al. 2010; Mehboob et al. 2017; Sparks et al. 2004). In particular, Gerona et al. (2016) reported that 15% of BPA forms recovered in the urine of the monitored individuals from the general population (pregnant women of diverse ethnic background) were sulfate conjugates. (Karrer, 2018 #21@@author-year) considered that bisphenols are conjugated to sulfates in their model, but to a lesser extent than glucurono-conjugates. In an *in vitro* study in human HepaRG hepatic cell line, Le Fol et al. (2015) found that 85.8% of BPS was conjugated to glucuronides and 10.5% to sulfates. In the present study, the volunteers were of different origins (4 North American Caucasians, 3 of North African Arabic origin). Furthermore, in both our study and the study of Oh et al. (2018), total recovery of the different BPS forms in urine was less than 100%, suggesting the remaining is either i) excreted in feces as observed in animals, although the threshold molecular weight for biliary excretion is higher in humans than animals (325 ± 50 g/mol for rats and 500 ± 50 g/mol for humans) (Waidyanatha et al. 2018; Yang et al. 2009) or ii) forms other metabolites, such as hydroxylated BPS in the ortho- and meta-positions of the phenol rings (Skledar and Mašič 2016; Skledar et al. 2016). The possible polymorphisms and variability in the urinary excretion of BPS forms in urine is an important aspect to consider for the biomonitoring of exposure to BPS and interpretation of biomonitoring data.

30. Comparison of BPS and BPA toxicokinetics in humans after oral exposure

The rates of appearance and elimination calculated from the time courses of BPS-d8 and BPSG-d8 in plasma (Table 1) were similar to those reported by Thayer et al. (2015) based on

serum profiles of unconjugated BPA-d6 and total BPA-d6 in volunteers orally exposed to BPA-d6 (mean initial $t_{1/2}$ (\pm SD) of 0.52 ± 0.28 and 0.26 ± 0.11 h, respectively; corresponding elimination $t_{1/2}$ from the terminal phase of 5.6 ± 1.2 h and 6.4 ± 2.0 , respectively). However, concentrations of unconjugated BPS-d8 at peak levels (C_{\max} of 158 ± 57 nmol/L) were found in much higher proportion compared to those of BPA-d6 (C_{\max} of 6.5 ± 3.2 nmol/L) and $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ of unconjugated BPS-d8 was on average 19 times higher than that of BPA (23 ± 6.2 nmol/L x h) for a similar administered molar dose ($0.39 \mu\text{mol BPS-d8/kg bw}$ versus $0.43 \mu\text{mol BPA-d6/kg bw}$) (see Table 2 for BPS-d8 values in our study). Furthermore, on average, molar percent of the administered dose excreted in total as BPS-d8 and BPSG-d8 in the urine of volunteers was 1.72 ± 1.3 and 54 ± 10 %, respectively, while values of 0.11 ± 0.19 and $87\% \pm 6.9\%$ were observed for BPA-d6 and BPAG-d6 after oral dosing with BPA-d6 in volunteers (Thayer et al. 2015). This suggests that the active unconjugated form of BPS is more prevalent than that of BPA in humans.

Although there are known animal-to-human differences in the glucuronidation, Gayrard et al. (2019b) showed that a significant fraction of BPS dose in orally exposed piglets reached the systemic circulation in the unconjugated form (57.4% on average). On the other hand, BPA underwent a significant first-pass phase II metabolism to BPAG after oral exposure such that, on average, only 0.5% of the administered dose was found unconjugated in plasma. These authors also found that plasma clearance of BPS was 3.5 times lower than that of BPA. From the piglet data, a toxicokinetic model was also developed by these authors and predicted that virtually all (99%) of BPS oral dose was absorbed as compared to about 77% on average for BPA. Their model also suggested that BPS conjugation did not occur in enterocytes but rather in the liver (44% of absorbed fraction) contrary to BPA for which an extensive first-pass glucuronidation in the gastrointestinal (GI) tract (44%) and liver (99% of the BPA that did not undergo conjugation in enterocytes) was simulated. In turn, systemic bioavailability of active unchanged BPS was estimated to be 57.4% versus 0.5% for BPA in piglets. Our human data on BPS compared to those of Thayer et al. (2015) also suggest a difference in the kinetics of BPS and BPA (in particular in the glucuronidation).

31. Toxicokinetics of BPS after dermal exposure and comparison with BPA

Dermal time course values were too close to the limit of detection or quantification to provide a direct comparison with the oral kinetic data. Nonetheless, as observed following oral

exposure, our results also show that BPS is very rapidly absorbed in the systemic circulation and eliminated from the body following dermal application of a low dose; however, elimination did not appear to be complete after 72 h, suggesting a somewhat longer residence time after dermal than oral exposure. Similarly, Liu and Martin (2017) reported that BPA was eliminated more slowly from the body after dermal contact with thermal receipts containing BPA compared to dietary exposure; they also reported that the proportion of unconjugated BPA in the systemic circulation was higher after dermal exposure than ingestion. In animals, Gingrich et al. (2019) determined the time courses of total BPS (conjugated and non-conjugated) in the plasma of pregnant sheep following subcutaneous exposure of 0.5 mg/kg of BPS and the calculated MRT ($6,7 \pm 0,3$ h) was very close to that calculated in the current study for BPS following oral exposure.

Results of our study further highlight that the dermal absorption fraction is very low, that is $<0.1\%$ based on BPS and BPSG profiles, which is smaller than that reported for BPA by Demierre et al. (2012) from human skin explants. In the latter study, on average (\pm SD), $56.9 \pm 4.9\%$ of the applied ^{14}C -BPA remained on the skin surface 24 h after application on skin explants and $8.6 \pm 2.1\%$ were found in the receptor fluid at 24 h post-application ($n = 7$ skin membranes prepared from two skin explants). With an experimental protocol similar to that of Demierre et al. (2012) but using fresh metabolically-active human skin explants and different ^{14}C -BPA exposure levels, Toner et al. (2018) obtained lower recoveries of ^{14}C -BPA in the receptor fluid - translating in a dermal absorption of 2-4%, and found a certain metabolism in the skin. More recently, Liu and Martin (2019) compared the percutaneous absorption and biotransformation of BPS and BPA *in vitro* using human epidermal cells (EpiDerm™ EPI-212 tissue constructs, a three-dimensional tissue model consisting of normal human epidermal keratinocytes on tissue culture inserts). They found that the permeability coefficient of BPS was lower than that of BPA. At both doses, $<10\%$ of total BPS had migrated into the receiver solutions, whereas 43–46% of total BPA were recovered in receiver solutions (0.003-0.009 cm/h versus 0.033-0.036 cm/h after application of 1.5 or 7.7 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$). They also reported a limited metabolism in the skin, given that more than 70% of total BPS and total BPA were found in the unconjugated form in skin tissue and in receiver solutions. These authors further compared the dermal penetration of BPS (not reported to be deuterated) and BPA-d6 from cumulative urinary excretion in volunteers simulating handling of thermal receipts and found that free BPS levels in

48-h urine collections, expressed as a proportion of total urine bisphenol, were higher than free BPA-d6 ($6,9 \pm 2,8$ % versus $2,7 \pm 1,9$ %). In line with these results, the average molar ratio of BPS-d8/(BPS-d8+BPSG-d8) in the urine of volunteers of our study can be calculated at 4.3%.

It is to be noted that BPS was applied on the forearm on our study. Ideally, it would have been better to apply BPS on a hand, which is the main exposure site, but this is hardly feasible. During biomathematical modeling, the permeability constant estimated from the data obtained can be adjusted to take into account the greater permeability of the skin of the forearm compared to that of the hands. Furthermore, the choice of the application area (40 cm^2) was to allow applying from 10 to $20 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ for a body weight between 50 and 70 kg, in accordance with the OECD (2004) recommendations of $10 \mu\text{L}/\text{cm}^2$. This suspension applied to an area of 40 cm^2 translates into an applied dose of 1.25 to $1.75 \text{ mg}/\text{cm}^2$ (body weight between 50 and 70 kg), which is in the same order of magnitude as the maximum dose recommended by the USEPA (1998) of $1 \text{ mg}/\text{cm}^2$ to ensure the absence of saturation of the absorption process. It is also in the same order of magnitude as the maximum exposure dose of skin estimated for BPA when handling cash receipts and determined from the maximal transfer coefficient of BPA ($21522 \text{ ng}/\text{s}$) and the skin surface area of hands in contact with tickets ($23,5 \text{ cm}^2$, *i.e.* $0,6 \text{ mg}/\text{cm}^2$) (Bernier and Vandenberg 2017).

In addition, BPS was applied on the skin in a solution of phosphate buffer (0.1 M) containing 1% sodium carboxymethylcellulose of medium viscosity (100 mg/mL) in our study, this medium being recommended as it does not modify the permeability of the skin (Vlaia et al. 2016). Amounts remaining on the skin at 6 h postdosing, hence at the time of washing, were not quantified. There could be differences in the absorption rate depending on the dissolution/suspension vehicle. In particular, dermal absorption rate of BPS through manipulation of thermal papers (Björnsdotter et al. 2017; Hines et al. 2017; Liu and Martin 2017; 2019; Ndaw et al. 2018; Russo et al. 2017) may be somewhat different from that observed in the current work. In particular in a study in volunteers manipulating thermal receipts, Hormann et al. (2014) showed that dermal absorption - as assessed from serum and urinary levels of BPA, BPAG and sulfo-conjugate of BPA (BPAS) - was enhanced in individuals who had used hand sanitizers immediately prior to holding receipts for 45 seconds compared to when handling receipts with dry hands. Interestingly, at least one volunteer of that study showed relatively high BPAS levels.

32. Interest of the toxicokinetic data for the purpose of biomonitoring

From a biomonitoring perspective, the data collected in this study will be used to develop a toxicokinetic model specific to BPS, which will allow dose reconstruction of BPS from plasma or urinary BPS and BPSG measurements in exposed individuals. Similar to BPA, the glucurono-conjugate of BPS is confirmed to be the main form of BPS excreted in urine and exhibited kinetics similar to the active unconjugated BPS moiety in humans with a short half-life. The rather short half-life of BPS-d8 and BPSG-d8 observed in our study following oral exposure suggests that steady-state equilibrium should be rapidly reached in individuals repeatedly exposed by ingestion, but there could be significant fluctuations in plasma and urinary concentrations for punctual BPS exposure through ingestion of contaminated food and drinks. Furthermore, the dermal data show a limited skin absorption such that dermal dose must be very high to contribute significantly to the absorbed dose by multiple routes, that is following combined oral, dermal and respiratory exposure. However, the apparent longer residence time of BPS in the body after dermal exposure suggests that a possible accumulation may be more important after dermal exposure than oral exposure upon repeated daily exposure.

4.6 Conclusions

Overall, the current data allowed to further document the toxicokinetics of BPS in humans. It confirmed the rapid appearance and elimination of the compound and its conjugate in the systemic circulation following oral exposure, with a majority of the dose being rapidly converted to the BPSG form. The present data also evidenced major differences between BPA and BPS kinetics with much higher systemic levels of active BPS than BPA, an observation explained by a higher oral bioavailability of BPS than BPA. These data indicate that the replacement of BPA by BPS could lead to increased exposure to a hormonally active substance. This work also confirmed the limited dermal absorption of BPS compared to oral absorption, but with a potentially longer residence time observed from plasma and urinary rate time courses after dermal exposure. These data should be useful for the development of a toxicokinetic model for a better interpretation of biomonitoring data. The current kinetic data is limited to a few volunteers

for feasibility and cost reasons; as highlighted by Andra et al. (2016), future studies are needed to document the variability in phase II conjugation between individuals (male, female, pregnancy status), which may affect interpretation of biomonitoring data.

4.7 Conflict of interest statement

The authors declare that there are no conflicts of interest.

4.8 Acknowledgements

Authors wish to thank all the participants, the nurse and the personnel for technical assistance.

4.9 Funding

The study was funded by the French National Research Program for Environmental and Occupational Health of ANSES [grant number 2017/1/174].

4.10 Annexe

Table 1. Toxicokinetic parameters calculated from plasma concentration-time profiles of BPS-d8 and BPSG-d8 (on a molar basis) in volunteers following ingestion of 0.1 mg/kg bw of BPS-d8 (n = 6).

Toxicokinetic parameters	Mean \pm SD (n = 6)	
	BPS-d8	BPSG-d8
AUC _{0$\rightarrow$$\infty$ oral} (nmol/L x h)	432 \pm 89	946 \pm 345
AUMC _{oral} (nmol/L x h ²)	3082 \pm 886	6774 \pm 3852
MRT (h)	7.1 \pm 1,0	6.9 \pm 2,6
Cl _{oral} (L/kg bw/h)	0.94 \pm 0,19	0.45 \pm 0,13
Bioavailability (F) (%) ^a	62 \pm 5	
Cl _{plasma} (L/kg bw/h) ^b	0.57 \pm 0,07	

^a Bioavailability (F) corresponds to the fraction of BPS-d8 reaching the systemic circulation unchanged. This calculation (to be valid) assumes that the oral absorption fraction (f_{abs}) is 1 given that by default $F = 1 - ER$, where ER is the extraction ratio due to first-pass metabolism that is considered to occur only in the liver.

^b Cl_{plasma} was computed from Cl_{oral} and the estimated bioavailability (F).

4.11 Captions to figures

- Figure 1.** Concentration-time courses of BPS-d8 (A) and BPSG-d8 (B) in the plasma of volunteers (nmol/L) following a single oral administration of 0.1 mg/kg bw (0,39 μ mol/kg bw) of BPS-d8 (mean \pm SD) (n = 6). Symbols represent mean values and vertical bars are standard deviations.
- Figure 2.** Time courses of BPS-d8 (A) and BPSG-d8 (B) excretion rate in the urine (% dose/h) of volunteers following a single oral administration of 0.1 mg/kg bw of BPS-d8 (mean \pm SD) (n = 7) (B). Symbols represent mean values and vertical bars are standard deviations.
- Figure 3.** Time courses of BPS-d8 (A) and BPSG-d8 (B) cumulative excretion (as a molar % of administered dose) in the urine of volunteers following a single oral administration of 0.1 mg/kg bw of BPS-d8 (mean \pm SD) (n = 7). Symbols represent mean values and vertical bars are standard deviations.
- Figure 4.** Time courses of BPS-d8 (A) and BPSG-d8 (B) excretion rate in the urine (% dose/h) of volunteers following a cutaneous application of 1 mg/kg bw of BPS-d8 during 6 h (n = 6). Symbols represent mean values and vertical bars are standard deviations.
- Figure 5.** Time courses of BPS-d8 (A) and BPSG-d8 (B) cumulative excretion (as a molar % of administered dose) in the urine of volunteers following a cutaneous application of 1 mg/kg bw of BPS-d8 during 6 h (n = 6). Symbols represent mean values and vertical bars are standard deviations.

Fig. 1

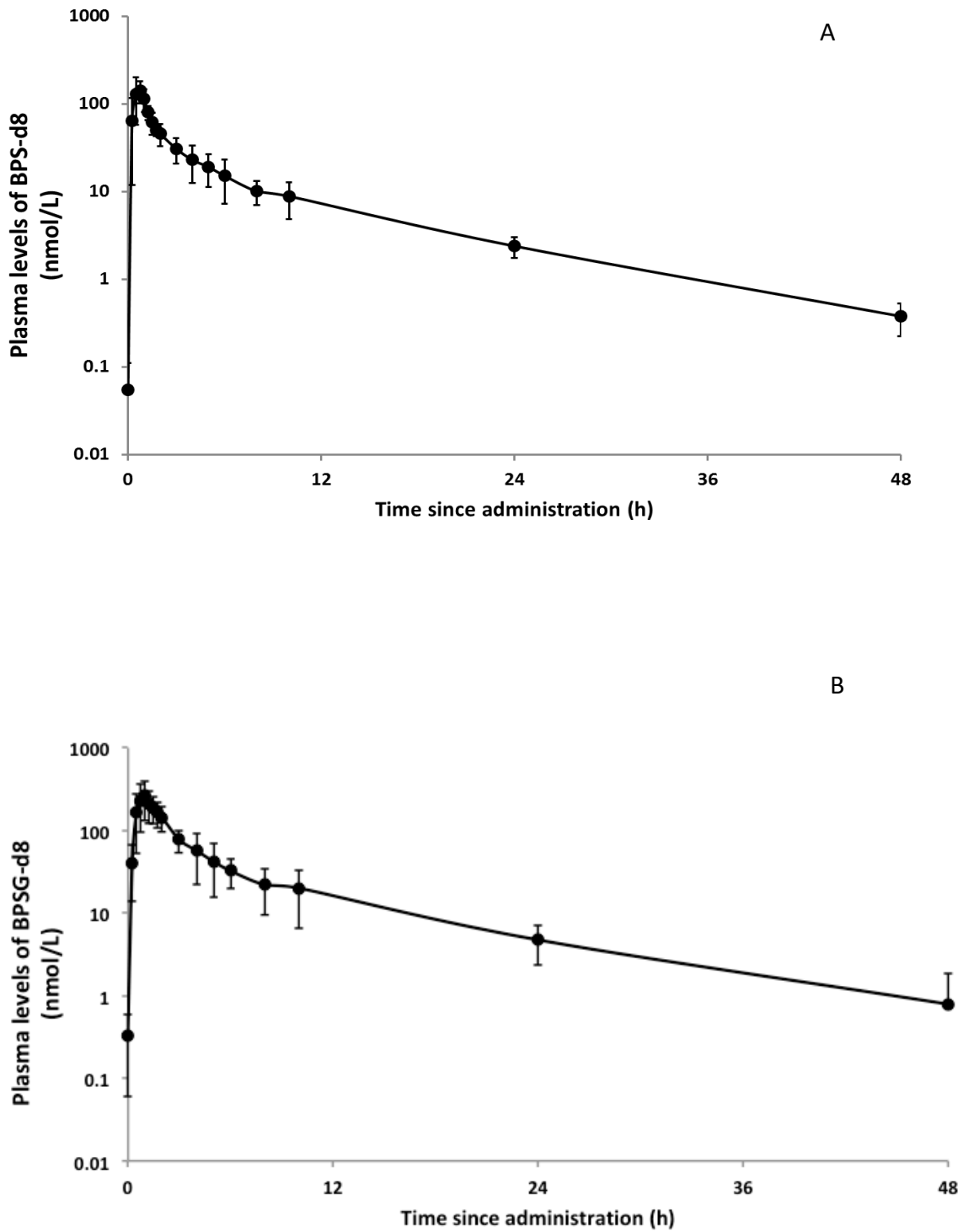


Fig. 2

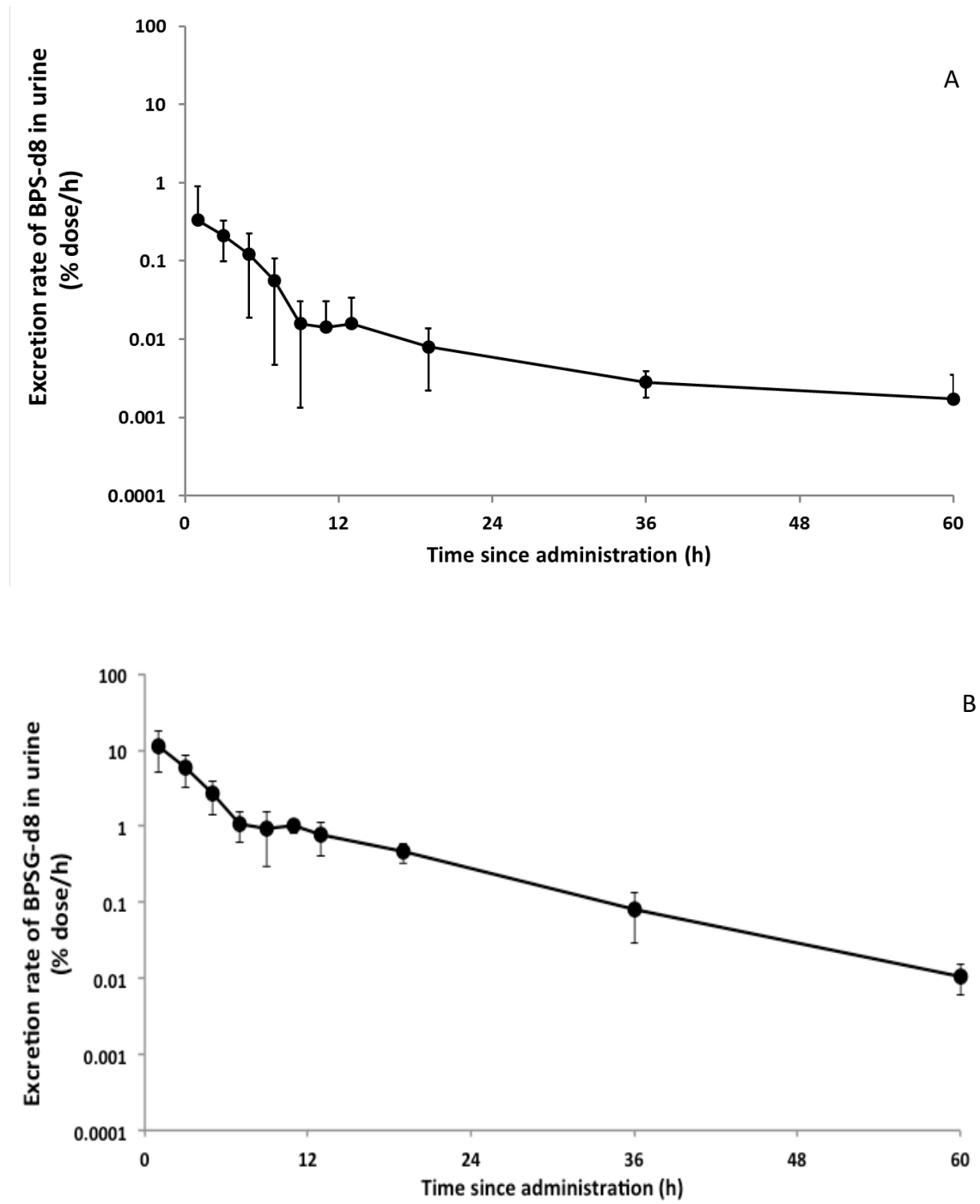


Fig. 3

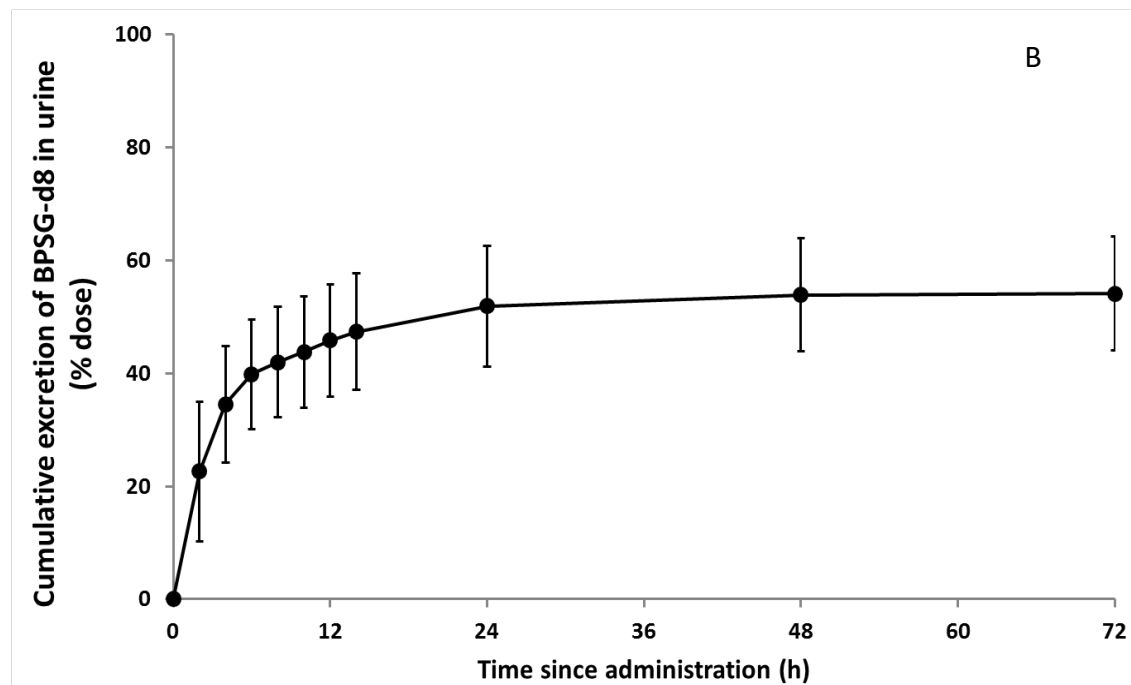
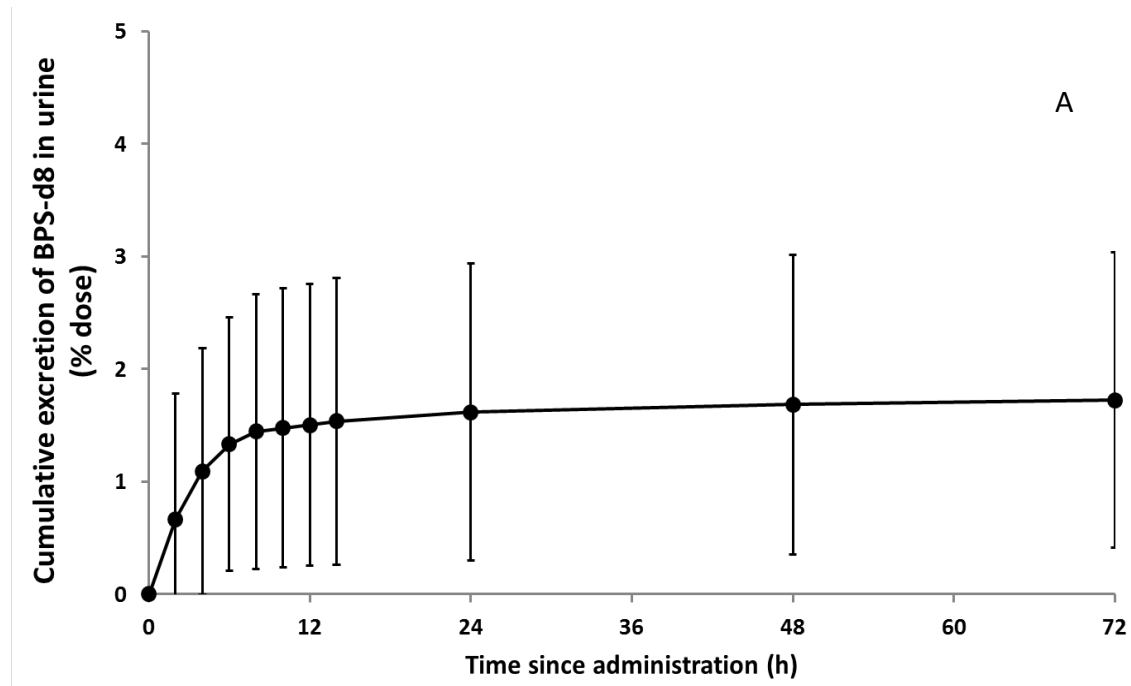


Fig. 4

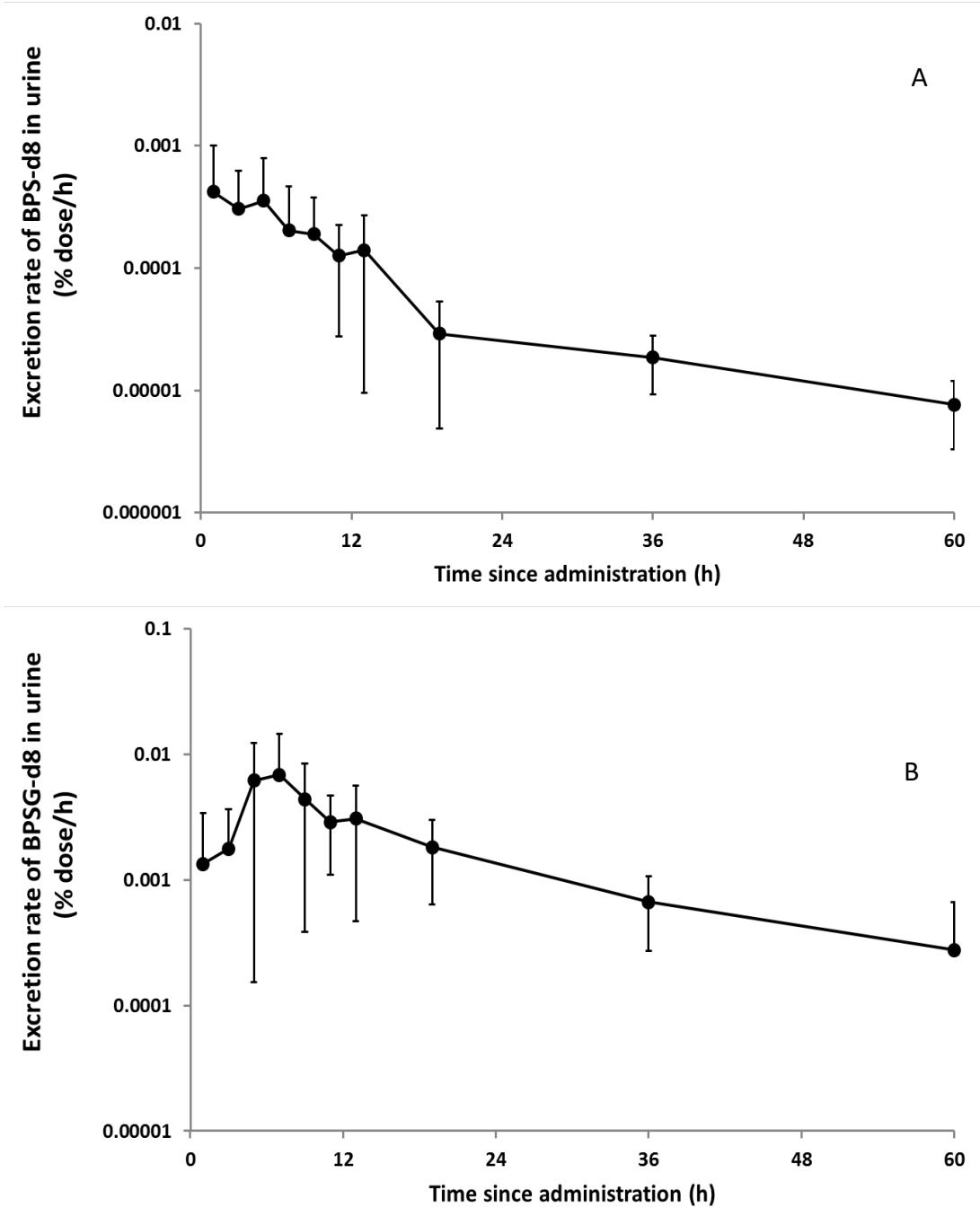
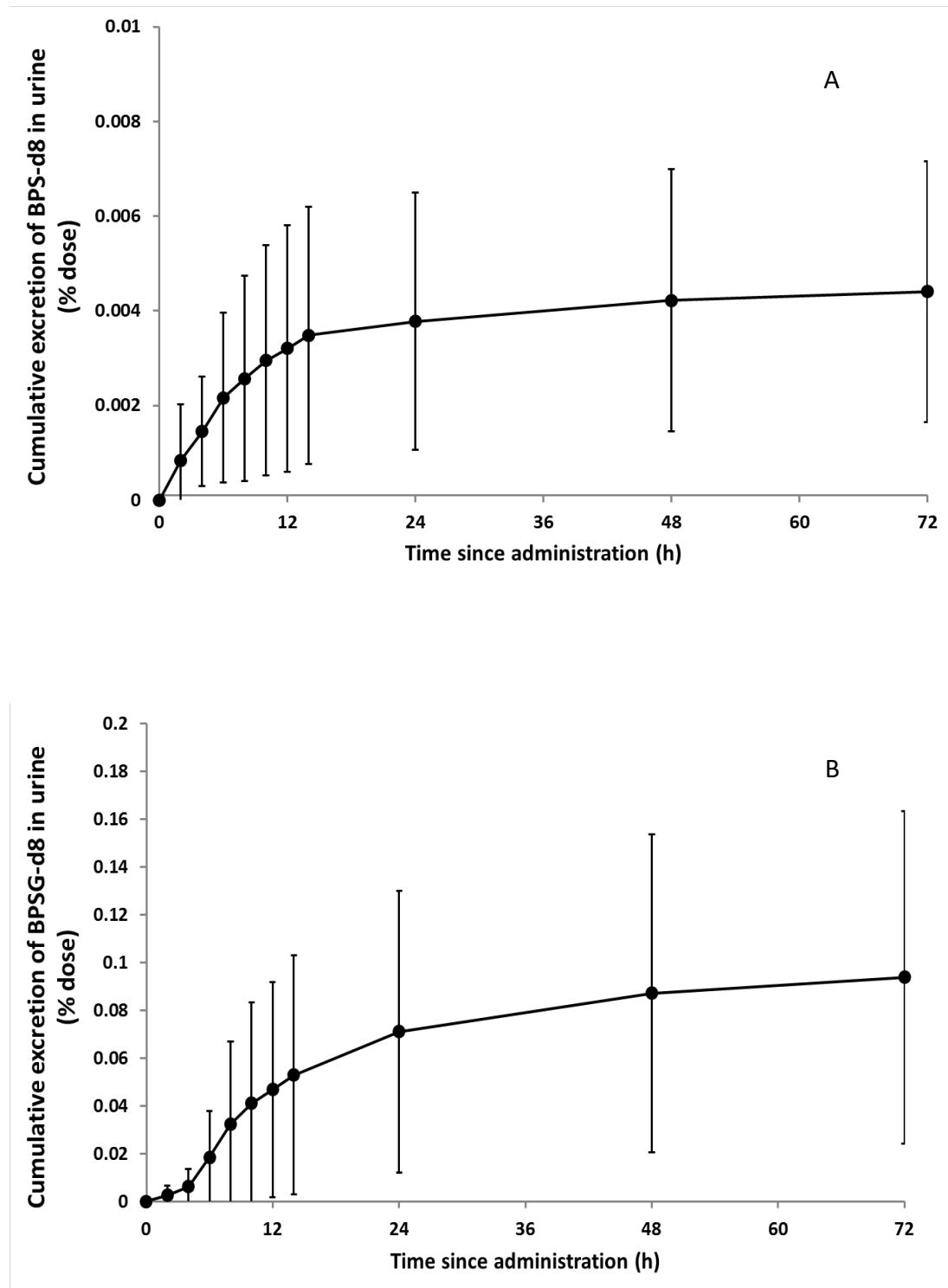


Fig. 5



Captions to figures for supplementary files

Figure S1. Individual concentration-time courses of BPS-d8 (A) and BPSG-d8 (B) in the plasma of volunteers (nmol/L) following a single oral administration of 0.1 mg/kg bw of BPS-d8 (n = 6).

Figure S2. Individual time courses of BPS-d8 (A) and BPSG-d8 (B) cumulative excretion (as a molar % of administered dose) in the urine of volunteers following a single oral administration of 0.1 mg/kg bw of BPS-d8 (n = 7).

Figure S3. Individual time courses of BPS-d8 (A) and BPSG-d8 (B) cumulative excretion (as a molar % of administered dose) in the urine of volunteers following a cutaneous application of 1 mg/kg bw of BPS-d8 during 6 h (n = 6). In Figure S3B, the time course of volunteer 4 (▲) overlaps that of volunteer 6 (○) at 0-24 h and that of volunteer 3 (■) at 24-48 h.

Figure S4. Concentration-time courses of BPS-d8 (A) and BPSG-d8 (B) in the urine of volunteers (nmol/L) following a single oral administration of 0.1 mg/kg bw (0,39 μ mol/kg bw) of BPS-d8 (mean \pm SD) (n = 6). Symbols represent mean values and vertical bars are standard deviations.

Figure S5. Concentration-time courses of BPS-d8 (A) and BPSG-d8 (B) in the urine of volunteers (nmol/L) following a cutaneous application of 1 mg/kg bw of BPS-d8 during 6 h (n = 6). Symbols represent mean values and vertical bars are standard deviations.

Figure S1.

A

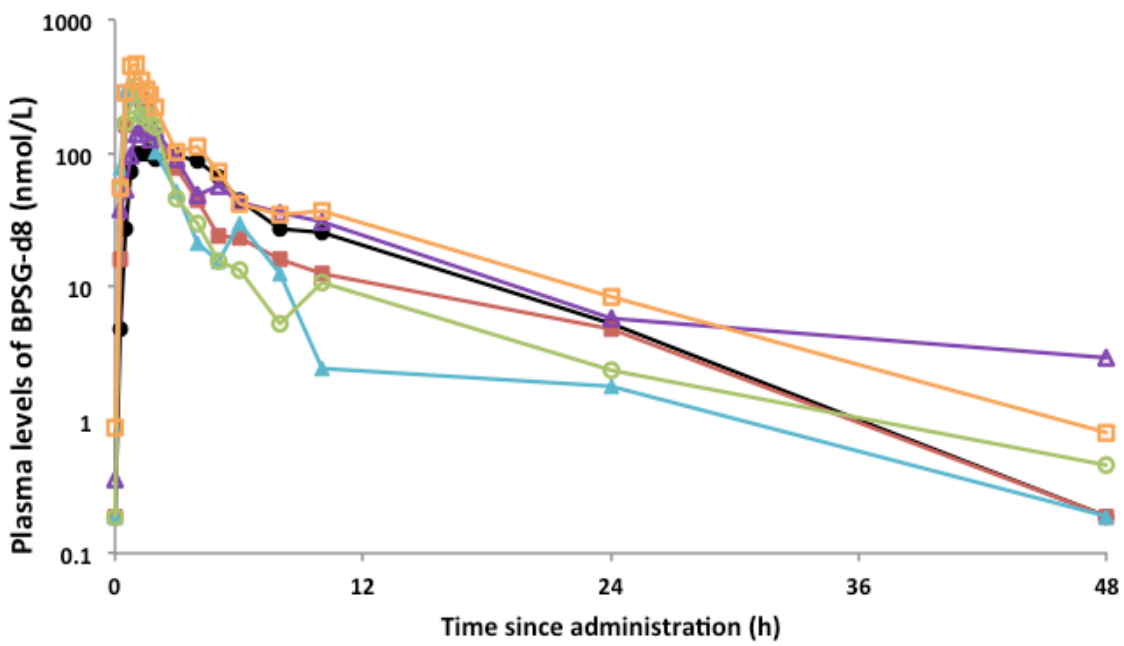
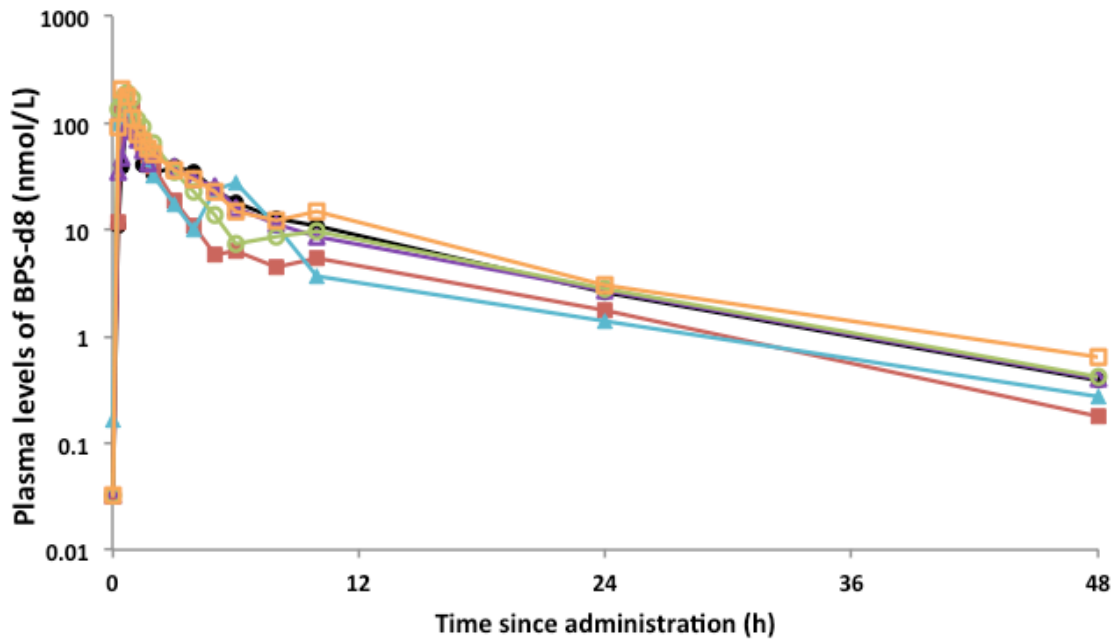


Figure S2.

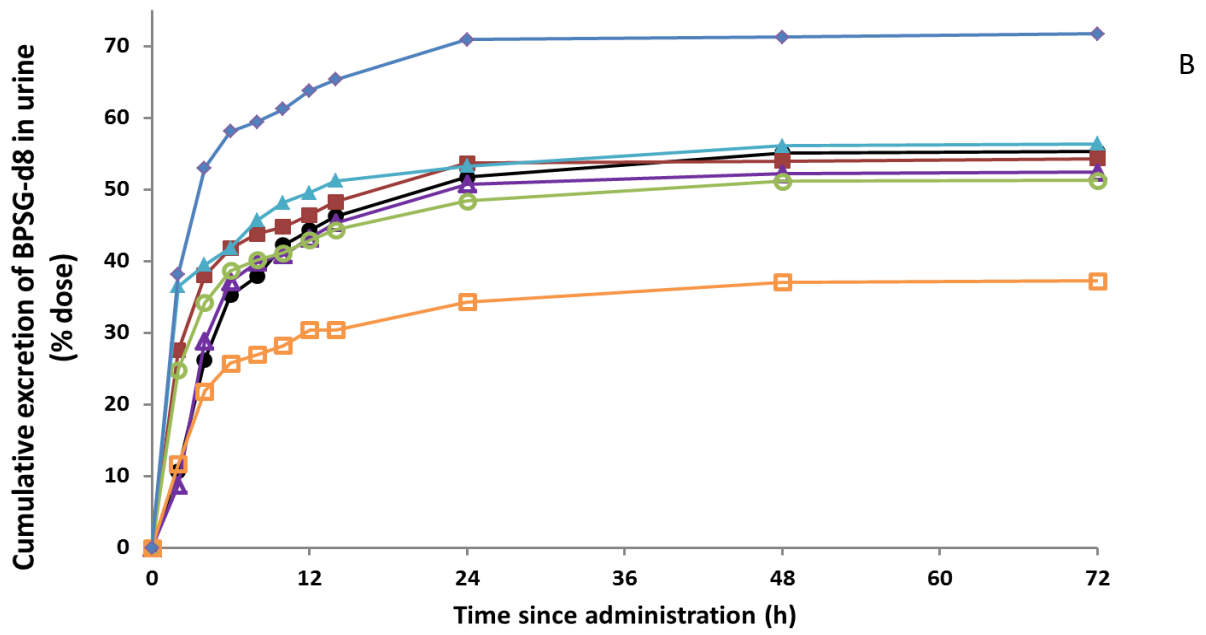
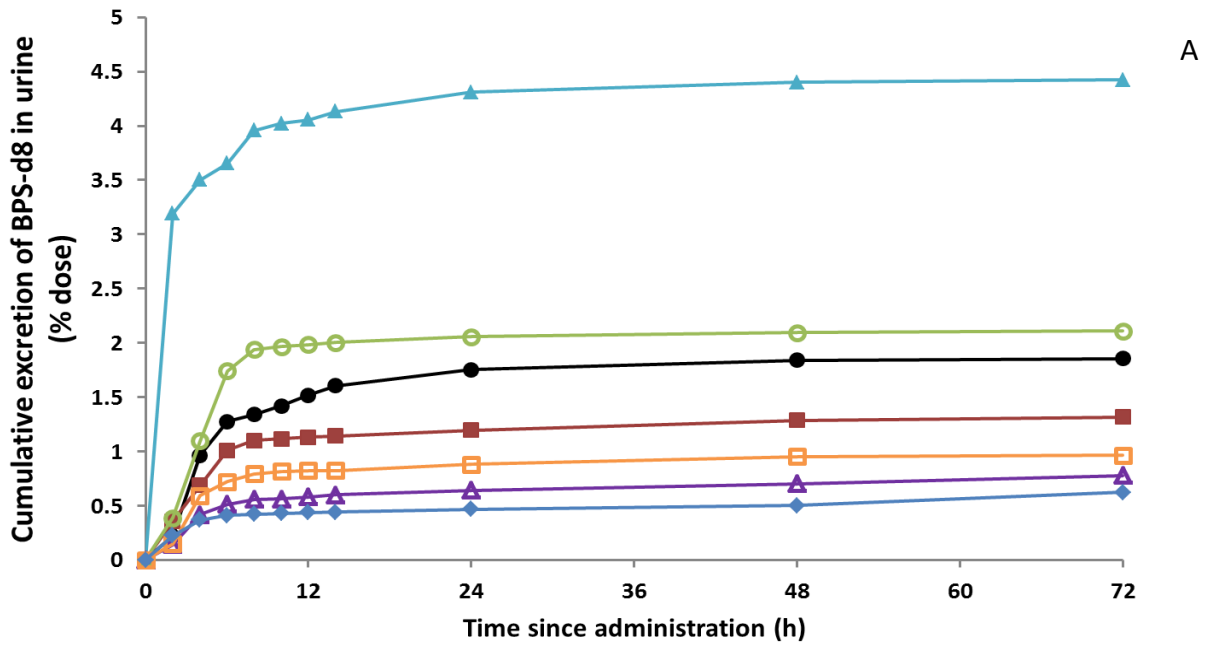


Figure S3.

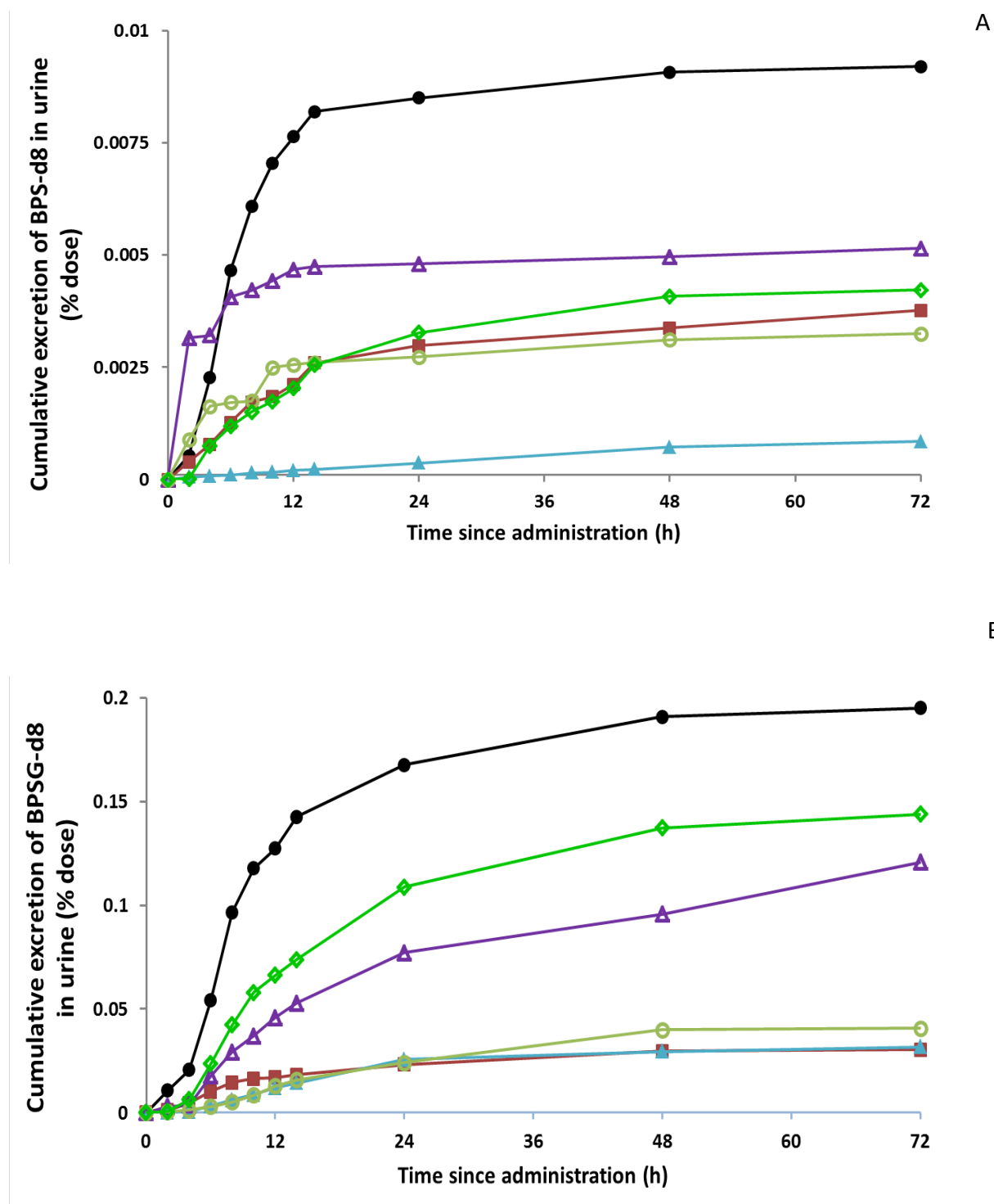


Figure S4.

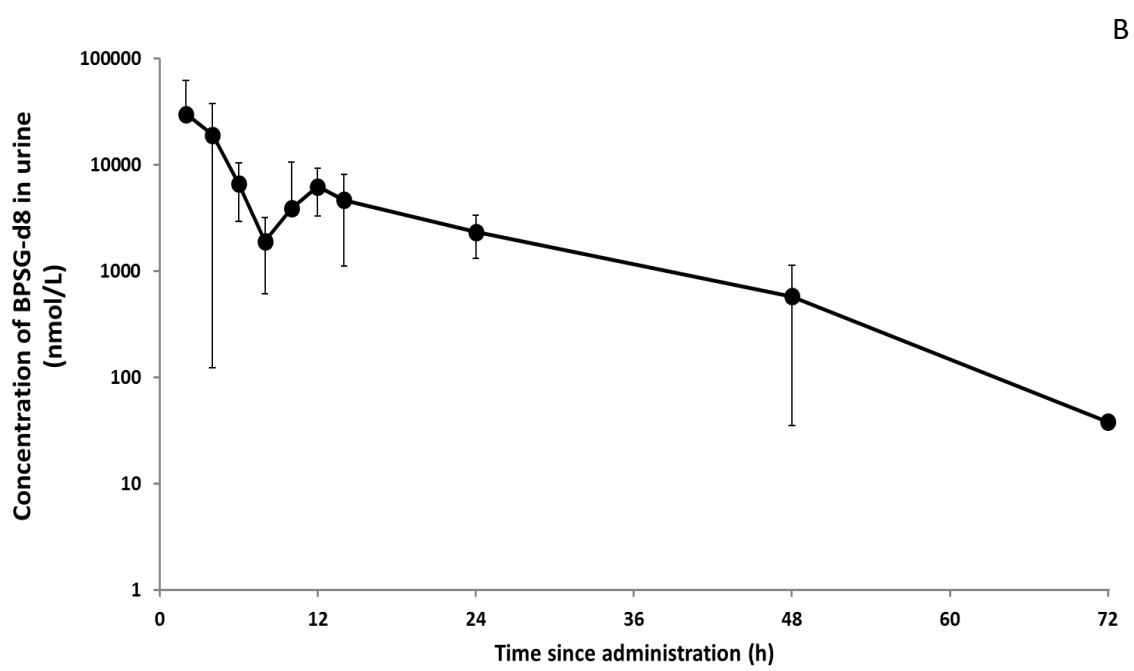
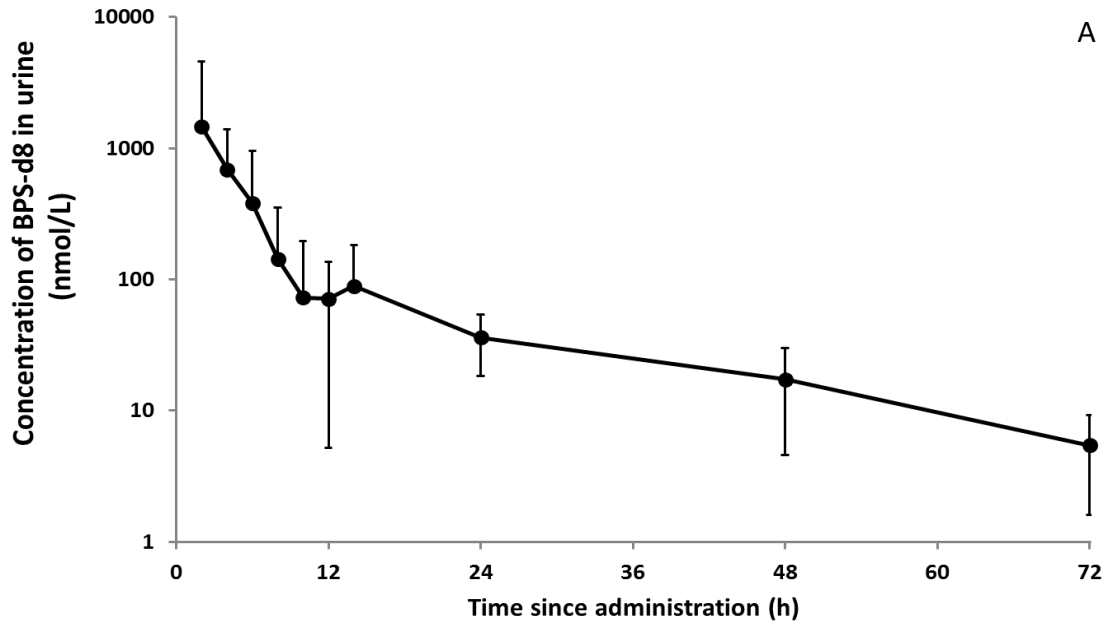


Figure S5.

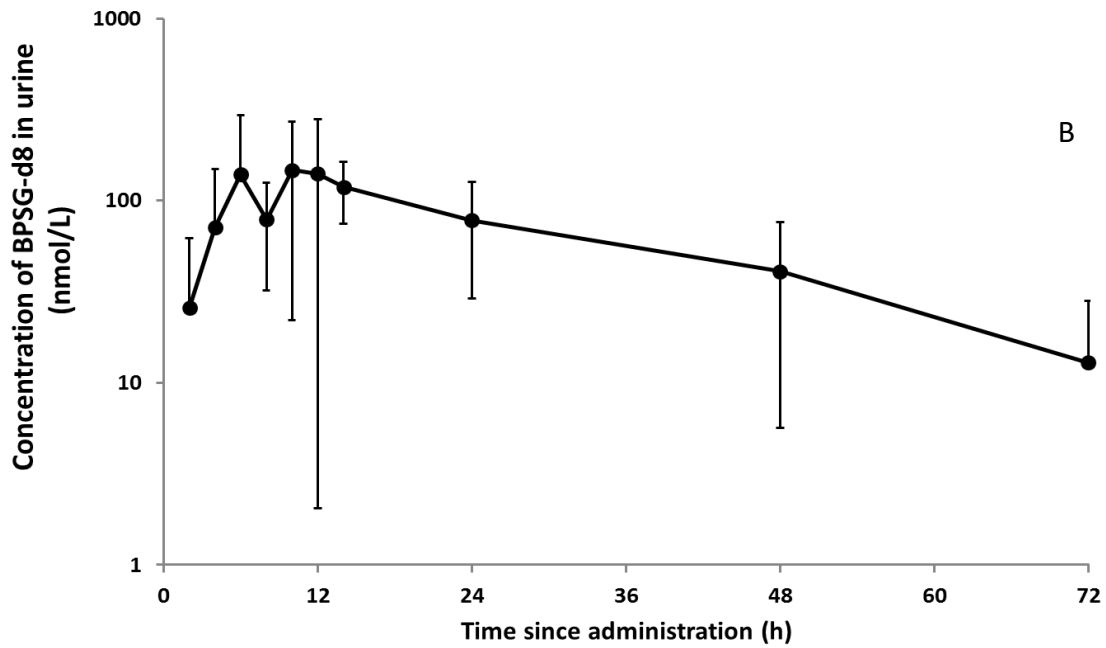
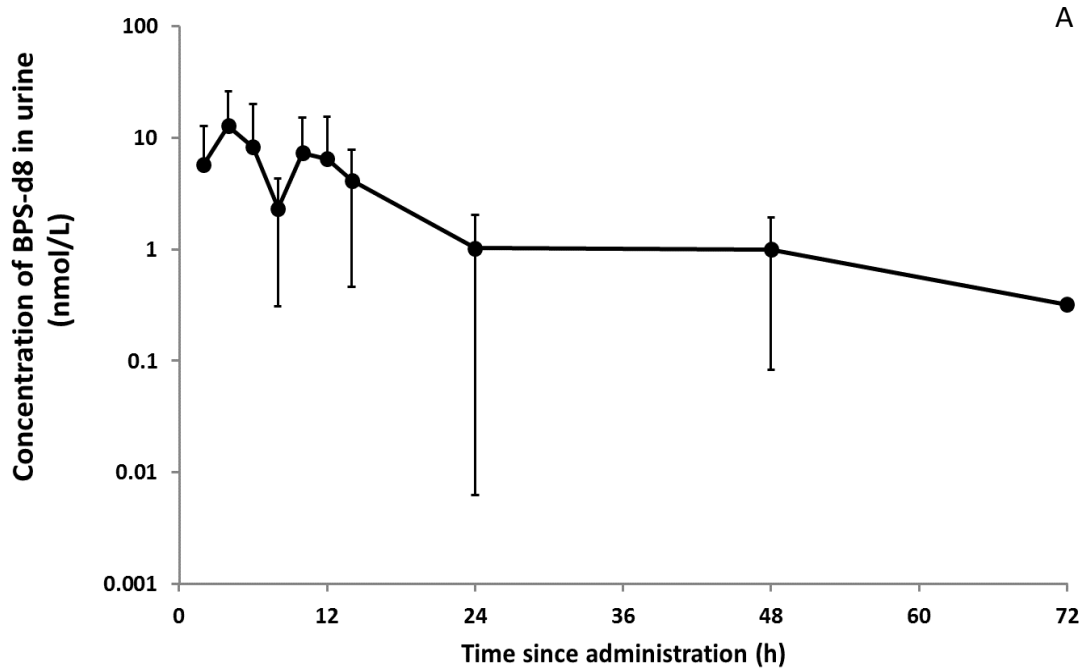


Table S1. Structure of dansylated BPSG-d8 and twice dansylated BPS-d8 and their MRM fragmentations.

<p>Structure of dansylated BPSG-d8 and its MRM fragmentations</p>	<p>Structure of twice dansylated BPS-d8 and its MRM fragmentations</p>

Table S2. Individual concentration-time courses of BPS-d8 and BPSG-d8 in the plasma of volunteers (nmol/L) following a cutaneous application of 1 mg/kg bw of BPS-d8 during 6 h (n = 6).

Time since the onset of application (h)	Individual plasma levels (nmol/L)								
	BPS-d8						BPSG-d8 ^a		
	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V2	V4	V5
0	<LOD	<LOD	0.07*	0.07*	0.11*	<LOD	<LOD	0.99*	<LOD
0.25	0.14*	<LOD	0.08*	0.13*	<LOD	0.06*	<LOD	<LOD	0.27*
0.5	0.08*	0.07*	0.12*	0.08*	<LOD	<LOD	<LOD	1.17	0.25*
0.75	0.38	0.16*	<LOD	0.06*	<LOD	<LOD	<LOD	0.97*	0.39*
1	0.65	0.07*	<LOD	0.09*	<LOD	0.14*	0.27*	<LOD	0.44*
1.25	0.57	0.08*	<LOD	0.15*	<LOD	0.11*	0.37*	<LOD	0.52*
1.5	0.62	<LOD	0.06*	0.06*	0.07*	<LOD	0.68*	1.23	0.81*
1.75	0.61	0.07*	<LOD	0.06*	<LOD	0.10*	0.39*	<LOD	0.31*
2	0.69	0.08*	<LOD	<LOD	<LOD	0.08*	0.67*	1.02*	0.38*
3	0.73	0.23	<LOD	0.21	<LOD	0.54	1.10*	<LOD	<LOD
4	0.75	0.19*	0.13*	0.33	<LOD	0.27	1.45	0.98*	0.80*
5	0.96	0.18*	0.09*	0.17*	<LOD	0.45	1.14*	0.97*	<LOD
6	0.70	0.16*	0.16*	0.17*	0.11*	0.29	1.62	1.01*	0.40*
8	0.52	0.12*	<LOD	0.27	0.12*	0.34	1.40	0.96*	0.58*
10	0.40	0.11*	0.09*	0.14*	0.10*	0.26	1.23	1.46	<LOD
24	0.14*	<LOD	<LOD	0.07*	0.07*	0.07*	<LOD	1.14*	<LOD
48	0.07*	<LOD	<LOD	0.08*	<LOD	0.09*	<LOD	<LOD	0.59*

^aConcentration between the LLOQ and the LOD (Hecht et al. 2018).

^aBPSG values for V3 were all below the LOD; for V6, only 1 value was >LOD, that is a concentration of 0.83 nmol/L at 5 h; for V7, only 2 values was >LOD, that is a concentration of 0.83 nmol/L at 8 h and 0.90 nmol/L at 10 h.

5 Discussion générale

Le présent projet est le premier à avoir évalué, dans un même cadre expérimental, la toxicocinétique du BPS et du BPSG spécifiquement après une exposition orale et cutanée chez des volontaires. Cette étude complète les données cinétiques orales disponibles de l'étude de Oh et al. (2018) ainsi que les données cutanées de Liu et Martin (2019). Les résultats de notre étude ont permis de mieux comprendre le comportement cinétique du BPS-d8 et du BPSG-d8 dans le corps humain, par l'analyse des paramètres toxicocinétique de ces deux composés. La détermination des paramètres PK du BPS chez l'humain est importante pour estimer les doses absorbées en fonction des conditions environnementales ou professionnelles. Ceci peut aussi contribuer à faire le lien entre les doses absorbées de BPS et les effets toxiques engendrés, et donc à fixer des valeurs de référence biologiques pouvant être utiles pour prédire l'exposition interne humaine au BPS, pour les principales voies d'exposition que constituent les voies orale et cutanée. Cette étude a aussi contribué à fournir de nouvelles données cinétiques pouvant servir de base au développement d'un modèle toxicocinétique humain; ce modèle pourra permettre la reconstruction des doses absorbées à partir de mesures de biomarqueurs de BPS et de BPSG mesurés chez des populations vulnérables, telles que les femmes en âge de procréer.

5.1 Retour sur les principaux résultats et comparaison avec les études déjà existantes

33. Exposition orale

En analysant les données disponibles dans la littérature scientifique sur la cinétique du BPS et de son métabolite majeur qui est le BPSG chez des volontaires exposés par voie orale, cutanée et chez des animaux exposés par voie intraveineuse, on peut remarquer une similarité relative dans l'évolution temporelle du BPS et BPSG dans le plasma et l'urine, bien que les niveaux diffèrent. Oh et al. (2018) ont récemment étudié les profils plasmatiques et urinaires du BPS-d5 d4 non conjugué et total (c'est-à-dire la somme des formes libres et conjuguées après hydrolyse enzymatique avec la β -glucuronidase/arylsulfatase). Notre étude, quant à elle, est la première à documenter la cinétique du BPS-d8 non conjugué et le BPS glucurono-conjugué spécifiquement (la forme conjuguée avec l'acide glucuronide). Nos résultats montrent que les concentrations plasmatiques maximales moyennes (\pm ET) ont été atteintes à peu près au même

moment pour le BPS et BPSG, soit à $0,7 \pm 0,1$ h pour le BPS-d8 et $1,1 \pm 0,4$ h pour le BPSG-d8. Par ailleurs, les valeurs des demi-vies d'absorption apparentes (moyenne \pm ET) sont de l'ordre de $0,2 \pm 0,1$ h et $0,5 \pm 0,4$ h, respectivement, pour le BPS-d8 et le BPSG-d8. Par comparaison, le BPA-d6 a des valeurs de demi-vies d'absorption orale de $0,52 \pm 0,28$ h et $0,26 \pm 0,11$ h et $0,52 \pm 0,28$ h pour le BPA non conjugué et conjugué et le BPA-d6, totale, ceci confirme que le BPS est absorbé plus rapidement que le BPA après exposition par voie orale. Par ailleurs, le taux d'absorption apparent similaire du BPS-d8 et BPSG-d8 après une exposition par voie orale suggère que les formes libres et conjuguées du BPS atteignent la circulation sanguine systémique à peu près dans le même intervalle de temps, ce qui indique un effet de premier passage hépatique, c'est-à-dire une conjugaison du BPS-d8 dans le foie avant d'atteindre la circulation systémique.

Néanmoins, malgré l'effet de premier passage, la biodisponibilité du BPS-d8 déterminée dans notre étude, soit la fraction du BPS administré qui atteint la circulation systémique sous forme inchangée (non conjugué), a été calculée à 66 % en moyenne, par rapport à 0,5 % pour le BPA sur la base de l'étude de Gayrard et al. (2019). Par ailleurs, l'aire sous la courbe ($AUC_{0 \rightarrow \infty}$) du BPS-d8 libre dans notre étude était environ 19 fois plus élevée que celle BPA libre dans l'étude de Thayer et al. (2015), pour une dose administrée (molaire) similaire. Cela suggère que la forme active non conjuguée du BPS dans le sang est plus importante que celle du BPA.

Une clairance plasmatique apparente a été calculée de l'ordre de 0,5 à 0,93 L/kg pc/h pour le BPS-d8 ; ces valeurs sont proches de la valeur de la clairance plasmatique humaine déduite de l'extrapolation allométrique à partir des données toxicocinétiques chez le rat, la brebis et le porcelet de 0,79 L/kg pc/h déterminé par Gayrard et al. (2019a). Par comparaison, la clairance plasmatique du BPS a été estimée être 3,5 fois plus élevée que celle du BPA (Gayrard et al. 2019), ce qui suggère que le BPS libre a un temps de résidence plasmatique plus long que le BPA.

Tant dans notre étude que dans l'étude de Oh et al. (2018), la récupération totale des différentes formes de BPS dans l'urine était inférieure à 100 %, ce qui suggère que le reste est : i) soit sous forme d'autres métabolites, comme le BPS hydroxylé et les sulfates conjugués en positions ortho et méta des anneaux phénoliques ; ii) soit excrété dans les fèces comme observé

chez les animaux, bien que le poids moléculaire seuil pour l'excrétion biliaire est plus élevé chez l'homme que chez l'animal (325 ± 50 g/mol pour les rats et 500 ± 50 g/mol pour les humains). En effet, nos résultats individuels ont montré que 37 à 72 % de la dose orale administrée étaient retrouvés dans l'urine sous forme de BPSG-d8 au cours de la période de collecte de 0 à 72 h. Dans l'étude d'Oh et al. (2018), la fraction de la dose orale récupérée dans l'urine sous forme de BPSG (BPS total moins BPS non conjugué) durant les 72 h après exposition était en moyenne de 70 % chez les volontaires de sexe féminin ($n = 3$) et de 92 % chez les participants masculins ; ces pourcentages élevés suggèrent que le BPS est quasi-complètement éliminé du corps après 72 heures. Puisque l'excrétion semble relativement complète après 72 h, les différences entre nos résultats et ceux d'Oh et al. (2018) s'expliqueraient en partie par le fait que ces derniers représentent les sulfates conjugués (Andra et al. 2016 ; Gerona et al. 2016 ; Liu et Martin 2019). Même si l'activité la conjugaison aux sulfates est considérée moins importante que la conjugaison aux glucuronides chez l'humain, il existe un polymorphisme connu entre les hommes et les femmes dans l'uridine-diphosphate (UDP) — glucuronosyltransferases (UGT) et sulfotransférase, en plus de variations ethniques. (Sparks et al. 2004; Mehboob et al. 2017 ; Mazur et al. 2010 ; Lampe et al. 2000 ; Kojima et Degawa 2014; Gallagher et al. 2010)

D'autre part, la fraction molaire de la dose administrée excrétée au total sous forme de BPS-d8 et BPSG-d8 dans l'urine des volontaires était respectivement de 1,72 et 54 %, tandis que des valeurs de 0,11 et 95 % ont été observées pour le BPA-d6 libre et le BPA-d6 total après administration orale de BPA-d6 chez des volontaires dans l'étude Thayer et al. (2015).

34. Exposition cutanée

En ce qui concerne les données de l'exposition cutanée, les profils temporels établis après application cutanée d'une dose unique de BPS-d8 ont montré des concentrations maximales 5 à 8 heures après le début de l'application, ce qui est proche du moment de nettoyage de la zone traitée. De plus, le BPSG-d8 a été quantifié à des concentrations légèrement plus élevées que le BPS-d8 (2 à 4 fois au niveau des valeurs maximales). Les résultats obtenus montraient des concentrations inférieures à la limite de quantification et de détection dans une grande partie des

échantillons. Il n'a donc pas été possible de déterminer des paramètres toxicocinétique à partir des profils temporels comme cela a été fait pour l'exposition orale.

Les données cutanées également ont montré que le BPS atteignait rapidement la circulation sanguine systémique et était donc rapidement absorbé par peau. Par contre, son élimination du corps semble être plus lente après exposition cutanée comparativement à son élimination après exposition orale ; ceci confirme que le temps de séjour serait plus élevé après une exposition cutanée qu'orale (plus de 72 h). Malgré le fait que le BPS serait rapidement absorbé au niveau de la peau, la fraction d'absorption cutanée était très faible, représentant moins de 0,1 % de la dose cutanée sur la base des profils de BPS et BPSG. Il est à noter que le BPS a été appliqué sur la peau dans une solution de tampon phosphate (0,1 M) contenant 1 % de carboxyméthylcellulose sodique dans notre étude. Ce milieu est recommandé, car il ne modifie pas la perméabilité de la peau et permet de garantir des conditions expérimentales semblables aux conditions environnementales (Vlaia et al. 2016a).

Les concentrations urinaires du BPS-d8 et du BPSG-d8 évoluaient en parallèle, avec un taux d'excrétion maximal entre 5 et 11 h après le début de l'application. Cependant, les taux d'excrétion cumulative de BPS-d8 et BPSG-d8 montrent que le BPSG-d8 est excrété en quantités environ 20 fois plus élevées que BPS-d8, et que l'excrétion du BPSG-d8 semble être un peu plus lente que le BPS-d8 au cours de la période de collecte de 72 h. En outre, l'excrétion de BPS n'est pas totalement complète après 72 h post-dosage (absence d'asymptote) et les pourcentages moyens (\pm ET) de la dose administrée récupérée dans l'urine était de l'ordre de $0,004 \pm 0,003$ % pour le BPS-d8 et $0,09 \pm 0,07$ % pour le BPSG-d8.

La biotransformation de BPS et de BPA semble limitée dans la peau, étant donné que plus de 70 % du BPS total et du BPA total ont été trouvés sous forme non conjuguée dans les tissus cutanés et dans les solutions réceptrices (Liu et Martin, 2016). En comparant la pénétration cutanée du BPS et du BPA provenant de l'excrétion urinaire cumulative chez des volontaires manipulant des reçus thermiques, Lui et Martin (2016) ont constaté que les niveaux de BPS libres dans des collectes d'urine de 48 heures étaient inférieurs au BPA libre ($2,7 \pm 1,9$ % versus $6,9 \pm 2,8$ %), suggérant que la fraction de BPS absorbé par la peau n'est pas aussi importante comparativement à celle de BPA.

Par ailleurs, une étude menée sur des volontaires manipulant des reçus thermiques a montré que l'absorption cutanée, telle qu'évaluée à partir des niveaux sériques et urinaires de BPA, BPAG et BPAS, était plus importante chez les personnes qui avaient utilisé des désinfectants pour les mains immédiatement avant de manipuler les reçus pendant 45 secondes par rapport à la manipulation des reçus avec les mains sèches.

5.2 Conclusions, avantages et limites de l'étude et perspectives de recherche

En conclusion, les données toxicocinétiques obtenues dans notre projet se sont avérées utiles pour mieux comprendre le devenir du BPS dans le corps et mieux cerner également les différences cinétiques avec le BPA. Les résultats toxicocinétiques de ce projet soulève des questionnements sur la substitution du BPA par le BPS. Toutefois, davantage d'études notamment sur les mécanismes d'action de cette molécule sont nécessaires pour mieux évaluer le risque relié à une exposition à ce composé. Il a aussi été démontré, dans le cadre de ce projet, qu'on ne peut pas généraliser, par analogie structurale, le comportement toxicocinétique de BPS et ceux d'autres bisphénols.

Les limites de l'étude clinique réalisée dans ce projet sont notamment liées : i) au faible nombre de participants et la difficulté de contrôler les conditions de l'étude clinique avec un nombre plus grand de participation ; ii) aux variabilités biologiques individuelles et physiologiques entre les participantes. Néanmoins, les résultats obtenus peuvent servir de base au développement d'un modèle toxicocinétique humain dont les valeurs des paramètres pourront être variées pour tenir compte d'une variabilité plus importante et vérifier l'impact sur les niveaux observés dans les matrices biologiques, comme l'urine et le plasma, utilisées en surveillance biologique de l'exposition.

Dans le futur, les études devraient s'orienter vers la biosurveillance des groupes vulnérables, tels que les femmes en âge de procréer, ainsi les populations les plus exposées comme les travailleurs comme pour les travailleurs dans les usines de fabrications de papier thermique, en mesurant les concentrations de BPS dans l'environnement de travail (dans l'air inhalé surtout) et les caissiers qui sont les personnes les plus exposées par contact cutané dû à la manipulation des reçus de caisses d'une façon quotidienne avec une fréquence de minimum 10 fois par heure. Le modèle toxicocinétique qui sera développé à partir des données du présent projet pourra ainsi servir à la reconstruction des doses absorbées à partir des mesures de BPS et de BPSG dans le plasma ou l'urine de ces populations cibles.

6 Références

Références

Uncategorized References

- Ahsan, N.; Ullah, H.; Ullah, W.; Jahan, S. Comparative effects of Bisphenol S and Bisphenol A on the development of female reproductive system in rats; a neonatal exposure study. *Chemosphere* 2018;197:336-343
- Alvergnas-Vieille, M. Effets du bézafibrate sur l'expression et la régulation des enzymes du métabolisme des xénobiotiques et sur le protéome hépatique dans les cultures primaires d'hépatocytes de rat et d'Homme. Impact de l'environnement redox. Besançon; 2011
- Andra, S.S.; Austin, C.; Yang, J.; Patel, D.; Arora, M. Recent advances in simultaneous analysis of bisphenol A and its conjugates in human matrices: Exposure biomarker perspectives. *Science of The Total Environment* 2016;572:770-781
- ANSES. Environmental and occupational health & safety on the assessment of the risks associated with bisphenol a for human health, and on toxicological data and data on the Use of bisphenols S, F, M, B, AP, AF and BADGE. 2013
- Balicco Alexis ; Bidondo Marie-Laure; Fillol Clémence; Gane Jessica; Oleko Amivi; Saoudi Abdessattar; Abdelkrim, Z. Imprégnation de la population française par les bisphénols A, S et F : Programme national de biosurveillance. 2019
- Beaud, D.; Tailliez, P.; Anba-Mondoloni, J. Genetic characterization of the β -glucuronidase enzyme from a human intestinal bacterium, *Ruminococcus gnavus*. *Microbiology* 2005;151:2323-2330
- Berg, K.; Buysch, H.-J.; Eitel, A.; Fennhoff, G.; Immel, O.; Pakull, R.; Wehrle, B.; Wulff, C. Process for the production of bisphenols. Google Patents; 1994
- Bernier, M.R.; Vandenberg, L.N. Handling of thermal paper: Implications for dermal exposure to bisphenol A and its alternatives. *PloS one* 2017;12:e0178449
- Björnsdotter, M.K.; de Boer, J.; Ballesteros-Gómez, A. Bisphenol A and replacements in thermal paper: A review. *Chemosphere* 2017;182:691-706
- Blondel, F. Aide-mémoire de gestion industrielle-2ème édition ed^eds: Dunod; 2006

- Bruyere, A.; Hubert, C.; Le Vee, M.; Chedik, L.; Sayyed, K.; Stieger, B.; Denizot, C.; Parmentier, Y.; Fardel, O. Inhibition of SLC drug transporter activities by environmental bisphenols. *Toxicology in Vitro* 2017;40:34-44
- Buatois, S.; Le Merdy, M.; Labat, L.; Scherrmann, J.-M.; Decleves, X. Principales modifications pharmacocinétiques chez l'enfant. *Toxicologie analytique et clinique* 2014;26:156-164
- Carme, L. Variations interspécifiques de la liaison du bisphénol A et du bisphénol S aux protéines plasmatiques. 2016
- Catanese, M.C.; Vandenberg, L.N. Bisphenol S (BPS) alters maternal behavior and brain in mice exposed during pregnancy/lactation and their daughters. *Endocrinology* 2016;158:516-530
- Champmartin, C.; Marquet, F.; Chedik, L.; Décret, M.-J.; Aubertin, M.; Ferrari, E.; Grandclaude, M.-C.; Cosnier, F. Human in vitro percutaneous absorption of bisphenol S and bisphenol A: A comparative study. *Chemosphere* 2020:126525
- Chen, Y.; Shu, L.; Qiu, Z.; Lee, D.Y.; Settle, S.J.; Hee, S.Q.; Telesca, D.; Yang, X.; Allard, P. Exposure to the BPA-substitute bisphenol S causes unique alterations of germline function. *PLoS genetics* 2016;12:e1006223
- Danovitch, S.; Laster, L. The development of arylsulphatase in the small intestine of the rat. *Biochemical Journal* 1969;114:343-350
- DATABASE, C.A.T. Bisphenol S. 2018
- Demierre, A.-L.; Peter, R.; Oberli, A.; Bourqui-Pittet, M. Dermal penetration of bisphenol A in human skin contributes marginally to total exposure. *Toxicology letters* 2012;213:305-308
- Duque Fernandez, A. Validation d'un modèle de substituts cutanés pathologiques pour des études dermopharmacologiques. 2008
- Eladak, S.; Grisin, T.; Moison, D.; Guerquin, M.-J.; N'Tumba-Byn, T.; Pozzi-Gaudin, S.; Benachi, A.; Livera, G.; Rouiller-Fabre, V.; Habert, R. A new chapter in the bisphenol A story: bisphenol S and bisphenol F are not safe alternatives to this compound. *Fertility and sterility* 2015;103:11-21
- Environnement Canada , C.; Santé Canada , C. Approche de gestion des risques proposée pour le Phénol, 4,4'-(1-méthyléthylidène) bis (Bisphénol A). 2008
- Fisher, J.W.; Twaddle, N.C.; Vanlandingham, M.; Doerge, D.R. Pharmacokinetic modeling: prediction and evaluation of route dependent dosimetry of bisphenol A in monkeys with extrapolation to humans. *Toxicology and applied pharmacology* 2011;257:122-136
- Frederiksen, H.; Nielsen, O.; Koch, H.M.; Skakkebaek, N.E.; Juul, A.; Jørgensen, N.; Andersson, A.-M. Changes in urinary excretion of phthalates, phthalate substitutes, bisphenols and

- other polychlorinated and phenolic substances in young Danish men; 2009–2017. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2020;223:93-105
- Gallagher, C.J.; Balliet, R.M.; Sun, D.; Chen, G.; Lazarus, P. Sex differences in UDP-glucuronosyltransferase 2B17 expression and activity. *Drug Metabolism and Disposition* 2010;38:2204-2209
- Gayrard, V.; Lacroix, M.Z.; Gély, C.A.; Grandin, F.C.; Léandri, R.; Bouchard, M.; Roques, B.; Toutain, P.-L.; Picard-Hagen, N. Toxicokinetics of bisphenol S in rats for predicting human bisphenol S clearance from allometric scaling. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2019a:114845
- Gayrard, V.; Lacroix, M.Z.; Grandin, F.C.; Collet, S.H.; Mila, H.; Viguié, C.; Gély, C.A.; Rabozzi, B.; Bouchard, M.; Léandri, R. Oral Systemic Bioavailability of Bisphenol A and Bisphenol S in Pigs. *Environmental health perspectives* 2019b;127:077005
- Gerona, R.R.; Pan, J.; Zota, A.R.; Schwartz, J.M.; Friesen, M.; Taylor, J.A.; Hunt, P.A.; Woodruff, T.J. Direct measurement of Bisphenol A (BPA), BPA glucuronide and BPA sulfate in a diverse and low-income population of pregnant women reveals high exposure, with potential implications for previous exposure estimates: a cross-sectional study. *Environmental Health* 2016;15:50
- Ghayda, R.A.; Williams, P.L.; Chavarro, J.E.; Ford, J.B.; Souter, I.; Calafat, A.M.; Hauser, R.; Mínguez-Alarcón, L. Urinary bisphenol S concentrations: Potential predictors of and associations with semen quality parameters among men attending a fertility center. *Environment international* 2019;131:105050
- Gibaldi, M.; Perrier, D. Clearance concepts. *Pharmacokinetics*: Marcel Dekker New York; 1982
- Gingrich, J.; Pu, Y.; Ehrhardt, R.; Karthikraj, R.; Kannan, K.; Veiga-Lopez, A. Toxicokinetics of bisphenol A, bisphenol S, and bisphenol F in a pregnancy sheep model. *Chemosphere* 2019;220:185-194
- Gingrich, J.; Pu, Y.; Roberts, J.; Karthikraj, R.; Kannan, K.; Ehrhardt, R.; Veiga-Lopez, A. Gestational bisphenol S impairs placental endocrine function and the fusogenic trophoblast signaling pathway. *Archives of toxicology* 2018;92:1861-1876
- Glausiusz, J. The plastics puzzle. *Nature* 2014;508:306
- Grandin, F.; Picard-Hagen, N.; Gayrard, V.; Puel, S.; Viguié, C.; Toutain, P.-L.; Debrauwer, L.; Lacroix, M.Z. Development of an on-line solid phase extraction ultra-high-performance liquid chromatography technique coupled to tandem mass spectrometry for quantification of bisphenol S and bisphenol S glucuronide: Applicability to toxicokinetic investigations. *Journal of Chromatography A* 2017;1526:39-46
- Grandin, F.C.; Lacroix, M.Z.; Gayrard, V.; Gauderat, G.; Mila, H.; Toutain, P.-L.; Picard-Hagen, N. Bisphenol S instead of Bisphenol A: Toxicokinetic investigations in the ovine materno-feto-placental unit. *Environment international* 2018;120:584-592

- Hayes, A.W. Principles and methods of toxicology ed^{eds}: Crc Press; 2007
- Haynes, W.M. CRC handbook of chemistry and physics ed^{eds}: CRC press; 2014
- Hecht, M.; Veigure, R.; Couchman, L.; S Barker, C.I.; Standing, J.F.; Takkis, K.; Evard, H.; Johnston, A.; Herodes, K.; Leito, I. Utilization of data below the analytical limit of quantitation in pharmacokinetic analysis and modeling: promoting interdisciplinary debate. *Bioanalysis* 2018;10:1229-1248
- Hercog, K.; Maisanaba, S.; Filipič, M.; Sollner-Dolenc, M.; Kač, L.; Žegura, B. Genotoxic activity of bisphenol A and its analogues bisphenol S, bisphenol F and bisphenol AF and their mixtures in human hepatocellular carcinoma (HepG2) cells. *Science of the total environment* 2019;687:267-276
- Hines, C.J.; Jackson, M.V.; Christianson, A.L.; Clark, J.C.; Arnold, J.E.; Pretty, J.R.; Deddens, J.A. Air, hand wipe, and surface wipe sampling for bisphenol A (BPA) among workers in industries that manufacture and use BPA in the United States. *Journal of occupational and environmental hygiene* 2017;14:882-897
- Hormann, A.M.; Vom Saal, F.S.; Nagel, S.C.; Stahlhut, R.W.; Moyer, C.L.; Ellersieck, M.R.; Welshons, W.V.; Toutain, P.-L.; Taylor, J.A. Holding thermal receipt paper and eating food after using hand sanitizer results in high serum bioactive and urine total levels of bisphenol A (BPA). *PloS one* 2014;9:e110509
- Husøy, T.; Andreassen, M.; Hjertholm, H.; Carlsen, M.H.; Norberg, N.; Sprong, C.; Papadopoulou, E.; Sakhi, A.K.; Sabaredzovic, A.; Dirven, H. The Norwegian biomonitoring study from the EU project EuroMix: Levels of phenols and phthalates in 24-hour urine samples and exposure sources from food and personal care products. *Environment international* 2019;132:105103
- INERIS. Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : Bisphenol A. 2012
- Ivry-Del Moral, L.; Le Corre, L.; Gaire, K.; Hélies, C.; Poirier, H.; Niot, I.; Rahmani, R.; Chagnon, M.-C. P019: Effet obésogène des bisphénols A et S chez la souris C57Bl/6. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 2014;28:S78
- Iwai, M.; Maruo, Y.; Ito, M.; Yamamoto, K.; Sato, H.; Takeuchi, Y. Six novel UDP-glucuronosyltransferase (UGT1A3) polymorphisms with varying activity. *Journal of human genetics* 2004;49:123-128
- Johannes, F. High Performance Polymers.2nd edition ed^{eds}; 2014
- Journal officiel de l'Union européenne, J. Règlement (UE) no 10/2011. 2011
- Karrer, C.; Roiss, T.; von Goetz, N.; Gramec Skledar, D.; Peterlin Mašič, L.; Hungerbühler, K. Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling of the bisphenols BPA, BPS,

- BPF, and BPAF with new experimental metabolic parameters: comparing the pharmacokinetic behavior of BPA with its substitutes
Environmental health perspectives 2018;126:077002
- Kojima, H.; Takeuchi, S.; Sanoh, S.; Okuda, K.; Kitamura, S.; Uramaru, N.; Sugihara, K.; Yoshinari, K. Profiling of bisphenol A and eight its analogues on transcriptional activity via human nuclear receptors. *Toxicology* 2019;413:48-55
- Kojima, M.; Degawa, M. Sex differences in the constitutive gene expression of sulfotransferases and UDP-glucuronosyltransferases in the pig liver: androgen-mediated regulation. *Drug metabolism and pharmacokinetics* 2014;29:192-197
- Lampe, J.W.; Bigler, J.; Bush, A.C.; Potter, J.D. Prevalence of polymorphisms in the human UDP-glucuronosyltransferase 2B family: UGT2B4 (D458E), UGT2B7 (H268Y), and UGT2B15 (D85Y). *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers* 2000;9:329-333
- Le Fol, V.; Aït-Aïssa, S.; Cabaton, N.; Dolo, L.; Grimaldi, M.; Balaguer, P.; Perdu, E.; Debrauwer, L.; Brion, F.o.; Zalko, D. Cell-specific biotransformation of benzophenone-2 and bisphenol-s in zebrafish and human in vitro models used for toxicity and estrogenicity screening. *Environmental science & technology* 2015;49:3860-3868
- Légifrance. LOI n° 2010-729 du 30 juin 2010 tendant à suspendre la commercialisation de biberons produits à base de bisphénol A 2010
- Lehmler, H.-J.; Liu, B.; Gadogbe, M.; Bao, W. Exposure to Bisphenol A, Bisphenol F, and Bisphenol S in US Adults and Children: The National Health and Nutrition Examination Survey 2013–2014. *ACS Omega* 2018;3:6523-6532
- Liao, C.; Kannan, K. Determination of free and conjugated forms of bisphenol A in human urine and serum by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Environmental science & technology* 2012;46:5003-5009
- Liao, C.; Kannan, K. A survey of alkylphenols, bisphenols, and triclosan in personal care products from China and the United States. *Archives of environmental contamination and toxicology* 2014a;67:50-59
- Liao, C.; Kannan, K. A survey of bisphenol A and other bisphenol analogues in foodstuffs from nine cities in China. *Food Additives & Contaminants: Part A* 2014b;31:319-329
- Liao, C.; Liu, F.; Alomirah, H.; Loi, V.D.; Mohd, M.A.; Moon, H.-B.; Nakata, H.; Kannan, K. Bisphenol S in urine from the United States and seven Asian countries: occurrence and human exposures. *Environmental science & technology* 2012a;46:6860-6866
- Liao, C.; Liu, F.; Guo, Y.; Moon, H.-B.; Nakata, H.; Wu, Q.; Kannan, K. Occurrence of eight bisphenol analogues in indoor dust from the United States and several Asian countries: implications for human exposure. *Environmental science & technology* 2012b;46:9138-9145

- Liu, J.; Li, J.; Wu, Y.; Zhao, Y.; Luo, F.; Li, S.; Yang, L.; Moez, E.K.; Dinu, I.; Martin, J.W. Bisphenol A metabolites and bisphenol S in paired maternal and cord serum. *Environmental science & technology* 2017;51:2456-2463
- Liu, J.; Martin, J.W. Prolonged exposure to bisphenol A from single dermal contact events. *Environmental science & technology* 2017;51:9940-9949
- Liu, J.; Martin, J.W. Comparison of Bisphenol A and Bisphenol S Percutaneous Absorption and Biotransformation. *Environmental health perspectives* 2019;127:067008
- Mazur, C.S.; Kenneke, J.F.; Hess-Wilson, J.K.; Lipscomb, J.C. Differences between human and rat intestinal and hepatic bisphenol A glucuronidation and the influence of alamethicin on in vitro kinetic measurements. *Drug Metabolism and Disposition* 2010;38:2232-2238
- Mehboob, H.; Tahir, I.M.; TahiraIqbal, N.A.; Munir, N.; Riaz, M. Genetic Polymorphism of UDP-Glucuronosyltransferase. *Genetic Polymorphisms* 2017:159
- Molina-Molina, J.-M.; Amaya, E.; Grimaldi, M.; Sáenz, J.-M.; Real, M.; Fernández, M.F.; Balaguer, P.; Olea, N. In vitro study on the agonistic and antagonistic activities of bisphenol-S and other bisphenol-A congeners and derivatives via nuclear receptors. *Toxicology and applied pharmacology* 2013;272:127-136
- Multigner, L.; Kadhel, P. Perturbateurs endocriniens, concepts et réalité. *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement* 2008;69:710-717
- Ndaw, S.; Remy, A.; Denis, F.; Marsan, P.; Jargot, D.; Robert, A. Occupational exposure of cashiers to Bisphenol S via thermal paper. *Toxicology letters* 2018;
- O'Neil, M.J.; Smith, A.; Heckelman, P.E.; Budavari, S. The merck index-An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. whitehouse station, NJ: Merck and Co. Inc 2001;767:4342
- OECD. Test No. 427: Skin Absorption: In Vivo Method ed^{eds}; 2004
- Oh, J.; Choi, J.W.; Ahn, Y.-A.; Kim, S. Pharmacokinetics of bisphenol S in humans after single oral administration. *Environment international* 2018;112:127-133
- Parkinson, A.; Ogilvie, B.W.; Buckley, D.B.; Kazmi, F.; Czerwinski, M.; Parkinson, O. Biotransformation of Xenobiotics. *Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*, 8e. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2012
- Philips, E.M.; Jaddoe, V.W.; Asimakopoulos, A.G.; Kannan, K.; Steegers, E.A.; Santos, S.; Trasande, L. Bisphenol and phthalate concentrations and its determinants among pregnant women in a population-based cohort in the Netherlands, 2004–5. *Environmental research* 2018;161:562-572

- Radwan, M.; Wielgomas, B.; Dziewirska, E.; Radwan, P.; Kałużny, P.; Klimowska, A.; Hanke, W.; Jurewicz, J. Urinary bisphenol A levels and male fertility. *American journal of men's health* 2018;12:2144-2151
- Rezg, R.; Abot, A.; Mornagui, B.; Aydi, S.; Knauf, C. Effects of Bisphenol S on hypothalamic neuropeptides regulating feeding behavior and apelin/APJ system in mice. *Ecotoxicology and environmental safety* 2018;161:459-466
- Rochester, J.R.; Bolden, A.L. Bisphenol S and F: a systematic review and comparison of the hormonal activity of bisphenol A substitutes. *Environmental health perspectives* 2015;123:643-650
- Russo, G.; Barbato, F.; Grumetto, L. Monitoring of bisphenol A and bisphenol S in thermal paper receipts from the Italian market and estimated transdermal human intake: A pilot study. *Science of the Total Environment* 2017;599:68-75
- Shi, M.; Whorton, A.E.; Sekulovski, N.; MacLean, J.A., II; Hayashi, K. Prenatal exposure to bisphenol A, E and S induces transgenerational effects on female reproductive functions in mice. *Toxicological Sciences* 2019;
- Skledar, D.G.; Mašič, L.P. Bisphenol A and its analogs: Do their metabolites have endocrine activity? *Environmental toxicology and pharmacology* 2016;47:182-199
- Skledar, D.G.; Schmidt, J.; Fic, A.; Klopčič, I.; Trontelj, J.; Dolenc, M.S.; Finel, M.; Mašič, L.P. Influence of metabolism on endocrine activities of bisphenol S. *Chemosphere* 2016;157:152-159
- Sparks, R.; Ulrich, C.M.; Bigler, J.; Tworoger, S.S.; Yasui, Y.; Rajan, K.B.; Porter, P.; Stanczyk, F.Z.; Ballard-Barbash, R.; Yuan, X. UDP-glucuronosyltransferase and sulfotransferase polymorphisms, sex hormone concentrations, and tumor receptor status in breast cancer patients. *Breast Cancer Research* 2004;6:R488
- Taylor, J.A.; Vom Saal, F.S.; Welshons, W.V.; Drury, B.; Rottinghaus, G.; Hunt, P.A.; Toutain, P.-L.; Laffont, C.M.; VandeVoort, C.A. Similarity of bisphenol A pharmacokinetics in rhesus monkeys and mice: relevance for human exposure. *Environmental health perspectives* 2010;119:422-430
- Teeguarden, J.G.; Twaddle, N.C.; Churchwell, M.I.; Yang, X.; Fisher, J.W.; Seryak, L.M.; Doerge, D.R. 24-hour human urine and serum profiles of bisphenol A: Evidence against sublingual absorption following ingestion in soup. *Toxicology and applied pharmacology* 2015;288:131-142
- Thayer, K.A.; Doerge, D.R.; Hunt, D.; Schurman, S.H.; Twaddle, N.C.; Churchwell, M.I.; Garantziotis, S.; Kissling, G.E.; Easterling, M.R.; Bucher, J.R. Pharmacokinetics of bisphenol A in humans following a single oral administration. *Environment international* 2015;83:107-115

- Toner, F.; Allan, G.; Dimond, S.S.; Waechter Jr, J.M.; Beyer, D. In vitro percutaneous absorption and metabolism of Bisphenol A (BPA) through fresh human skin. *Toxicology in Vitro* 2018;47:147-155
- USEPA. Health effects test guidelines. OPPTS 870.7600. Dermal penetration. . U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC 20460; 1998
- Viñas, P.; Campillo, N.; Martínez-Castillo, N.; Hernández-Córdoba, M. Comparison of two derivatization-based methods for solid-phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometric determination of bisphenol A, bisphenol S and biphenol migrated from food cans. *Analytical and bioanalytical chemistry* 2010;397:115-125
- Vlaia, L.; Coneac, G.; Olariu, I.; Vlaia, V.; Lupuleasa, D. Cellulose-derivatives-based hydrogels as vehicles for dermal and transdermal drug delivery. *Emerging Concepts in Analysis and Applications of Hydrogels* 2016;176
- Waidyanatha, S.; Black, S.R.; Snyder, R.W.; Yueh, Y.L.; Sutherland, V.; Patel, P.R.; Watson, S.L.; Fennell, T.R. Disposition and metabolism of the bisphenol analogue, bisphenol S, in Harlan Sprague Dawley rats and B6C3F1/N mice and in vitro in hepatocytes from rats, mice, and humans. *Toxicology and applied pharmacology* 2018;351:32-45
- Wan, Y.; Xia, W.; Yang, S.; Pan, X.; He, Z.; Kannan, K. Spatial distribution of bisphenol S in surface water and human serum from Yangtze River watershed, China: Implications for exposure through drinking water. *Chemosphere* 2018;199:595-602
- Wang, H.; Song, S.; Shao, M.; Gao, Y.; Yang, C.; Li, Y.; Wang, W.; He, Y.; Li, P. Determination of bisphenol analogues in food-contact plastics using diode array detector, charged aerosol detector and evaporative light-scattering detector. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2019;186:109778
- Wang, W.; Zhang, X.; Wang, Z.; Qin, J.; Wang, W.; Tian, H.; Ru, S. Bisphenol S induces obesogenic effects through deregulating lipid metabolism in zebrafish (*Danio rerio*) larvae. *Chemosphere* 2018;199:286-296
- Weiss, M. Use of metabolite AUC data in bioavailability studies to discriminate between absorption and first-pass extraction. *Clinical pharmacokinetics* 1990;18:419-422
- Wu, L.-H.; Zhang, X.-M.; Wang, F.; Gao, C.-J.; Chen, D.; Palumbo, J.R.; Guo, Y.; Zeng, E.Y. Occurrence of bisphenol S in the environment and implications for human exposure: a short review. *Science of the Total Environment* 2018;615:87-98
- Xiao, X.; Zhang, X.; Zhang, C.; Li, J.; Zhao, Y.; Zhu, Y.; Zhang, J.; Zhou, X. Toxicity and multigenerational effects of bisphenol S exposure to *Caenorhabditis elegans* on developmental, biochemical, reproductive and oxidative stress. *Toxicology Research* 2019;

Yang, X.; Gandhi, Y.A.; Duignan, D.B.; Morris, M.E. Prediction of biliary excretion in rats and humans using molecular weight and quantitative structure–pharmacokinetic relationships. *The AAPS journal* 2009;11:511

Ye, X.; Wong, L.-Y.; Kramer, J.; Zhou, X.; Jia, T.; Calafat, A.M. Urinary concentrations of bisphenol A and three other bisphenols in convenience samples of US adults during 2000–2014. *Environmental science & technology* 2015;49:11834-11839