



HAL
open science

Le soja et ses phyto-estrogènes : les impacts sur différentes phases de notre vie

Diana Marie Farail

► **To cite this version:**

Diana Marie Farail. Le soja et ses phyto-estrogènes : les impacts sur différentes phases de notre vie. Sciences du Vivant [q-bio]. 2020. dumas-03095354

HAL Id: dumas-03095354

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03095354>

Submitted on 4 Jan 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2020

Thèse n° 145

THÈSE POUR L'OBTENTION DU

DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Par FARAIL, Diana Marie

Née le 15 Juillet 1994 à Pessac

Le 10 Décembre 2020

**Le soja et ses phyto-estrogènes : les impacts sur
différentes phases de notre vie**

Sous la direction de : Isabelle RAYMOND
(co-directrice : Françoise AMOUROUX)

Membres du jury :

| | | |
|-----------|----------------------------------|---|
| Président | M. Jean GUILLON | Professeur des Universités |
| Juge | Mme Catherine BENNETAU-PELISSERO | Professeure des Universités, HDR |
| Juge | Mme Isabelle RAYMOND | Docteure en Pharmacie, Praticien Hospitalier |
| Juge | Mme Françoise AMOUROUX | Docteure en Pharmacie, PAST |

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier chaleureusement **Mme Catherine Bennetau-Pelissero**, sans qui cette thèse ne serait pas aussi qualitative. Merci pour votre temps, vos connaissances, vos remarques/corrections et de me faire l'honneur de votre présence dans le jury. J'espère que ce manuscrit sera digne de vos attentes.

Mme Isabelle Raymond et Mme Françoise Amouroux,

Merci d'avoir accepté la direction de cette thèse, de m'avoir permis de traiter de ce sujet si intéressant et de votre confiance.

Je vous remercie également,

Mme Raymond, pour tout ce que vous m'avez apporté depuis notre rencontre au service de médecine interne lors de mon stage d'externat.

Mme Amouroux, pour tous vos enseignements au cours de mon cursus.

Mr Jean Guillon,

Merci d'avoir accepté de présider ma thèse, cela me fait extrêmement plaisir.

Merci pour votre gentillesse et votre bienveillance tout au long de mes études en pharmacie.

A ma famille, à Gaétan,

Merci pour votre amour, votre soutien inconditionnel depuis tant d'années. Vous avez toujours cru en moi, me poussant à être meilleure chaque jour. J'espère vous rendre fiers.

A mes amis, confrères/consœurs de la team 7, Juliette, Antoine, Caroline, Leila et Florian, sans qui ces dernières années d'étude n'auraient pas été aussi drôles !

A mes amis de toujours, Charlotte, Lucile, Marion, Guillaume, Aurélie, Melvine, PA et tous ceux de la Dream Team, pour votre amitié, votre soutien durant toutes mes études, nos moments passés et les aventures futures qui nous attendent dans l'ère adulte !

A Dorian, Blandine, Sly, Jeff, Vinz et Diane pour votre bonne humeur, tous nos moments partagés, qui m'ont parfois bien aidée à décompresser lors de ces années.

A mes amis inspirants et inspirés, Sarah, Rémi, Benjamin. Continuez de briller vous êtes parfaits.

A mes belles rencontres pharmaceutiques, Claire-Marie, Caroline, Morgane, pour toutes ces années d'étude.

Big Up à ma Perrine, super pharmacienne. On se retrouvera au soleil à faire des TROD !

Merci à vous, chers lecteurs, de vous plonger dans cet ouvrage. J'espère qu'il vous intéressera tout autant qu'il m'a intéressé et intrigué, aussi complexe soit-il.

Bon appétit, et prenez soin de votre santé.

Table des matières

| | |
|--|-----------|
| REMERCIEMENTS..... | 1 |
| LISTE DES FIGURES | 5 |
| LISTE DES TABLEAUX..... | 6 |
| LISTE DES ABREVIATIONS..... | 7 |
| INTRODUCTION | 9 |
| I. LE SOJA..... | 11 |
| 1. DESCRIPTION DE LA PLANTE (6,7) | 11 |
| 2. CULTURE MONDIALE DU SOJA EN 2018 (9,10)..... | 12 |
| 3. APPORTS NUTRITIFS (4)..... | 15 |
| II. LES PHYTO-ESTROGENES..... | 16 |
| 1. PRESENTATION..... | 16 |
| 2. ORIGINE VEGETALE DES ISOFLAVONES | 18 |
| 3. PHARMACOCINETIQUE (14,19,20)..... | 19 |
| a) <i>Absorption</i> | 19 |
| b) <i>Métabolisation</i> | 19 |
| c) <i>Distribution</i> | 20 |
| d) <i>Excrétion</i> | 21 |
| e) <i>Modifications chimiques des isoflavones dans la nourriture</i> | 21 |
| 4. MECANISME D'ACTION (14) | 22 |
| 5. EXPOSITION (14)..... | 27 |
| a) <i>Alimentation</i> | 27 |
| b) <i>Compléments alimentaires</i> | 28 |
| 6. EFFETS POSITIFS SUR L'ORGANISME | 30 |
| 7. AVANT-PROPOS DES ARTICLES DE REVUES ETUDIANT LES PHYTO-ESTROGENES | 32 |
| III. IMPACTS SUR LE DEVELOPPEMENT DES APPAREILS REPRODUCTEURS ET LA REPROTOXICITE | 33 |
| 1. RAPPEL : BIOSYNTHESE PHYSIOLOGIQUE DES HORMONES SEXUELLES (36,37)..... | 33 |
| 2. IMPACT CHEZ L'HOMME | 37 |
| a) <i>Développement de l'enfant</i> | 37 |
| b) <i>Exposition de rats mâles adultes : études sur la fertilité</i> | 38 |
| c) <i>Etudes épidémiologiques sur la qualité spermatique</i> | 41 |
| 3. IMPACT CHEZ LA FEMME | 45 |
| a) <i>Développement du nouveau-né</i> | 45 |
| b) <i>Puberté</i> | 46 |
| c) <i>Cycle menstruel</i> | 47 |
| d) <i>Fertilité</i> | 50 |
| e) <i>Exposition des nourrissons et risques à long terme</i> | 51 |
| 4. ÉTUDE SUR L'EXPOSITION LORS DE LA GESTATION | 52 |
| 5. ÉTUDES DE REPROTOXICITE : EXPOSITION IN UTERO ET LACTATIONELLE..... | 53 |

| | |
|---|------------|
| IV. CANCERS DU SEIN..... | 66 |
| 1. EPIDEMIOLOGIE (99,100) | 66 |
| 2. PHYSIOPATHOLOGIE | 67 |
| a) Anatomie (102)..... | 67 |
| b) Anatomopathologie (102,103) | 68 |
| c) Facteurs de risque (102,103) | 69 |
| d) Dépistage (102,104) | 70 |
| e) Diagnostic clinique (102,103) | 71 |
| f) Examens complémentaires paracliniques (102,103)..... | 72 |
| g) Bilan d'extension (102,103) | 76 |
| h) Bilan pré-thérapeutique (102,103) | 77 |
| i) Prise en charge des carcinomes infiltrants (102,103,106–108)..... | 78 |
| j) Surveillance..... | 85 |
| 3. EFFETS DES PHYTO-ESTROGENES SUR LA CANCEROGENESE ET LA CROISSANCE TUMORALE..... | 85 |
| a) Mécanismes d'action | 85 |
| b) Etudes cliniques | 90 |
| c) Etudes épidémiologiques : lien entre consommation de phyto-estrogènes et risque de cancer du sein..... | 91 |
| V. MENOPAUSE..... | 96 |
| 1. DEFINITION | 96 |
| 2. TRAITEMENTS HORMONAUX DE LA MENOPAUSE..... | 97 |
| a) Principales molécules d'estrogènes utilisées | 99 |
| b) Molécules progestatives | 99 |
| c) Principales complications | 100 |
| 3. TRAITEMENTS NON HORMONAUX | 100 |
| 4. COMPLEMENTS ALIMENTAIRES | 100 |
| 5. LES BOUFFEES DE CHALEURS..... | 101 |
| a) Etudes cliniques | 101 |
| b) Méta-analyses | 102 |
| 6. LA DENSITE OSSEUSE | 105 |
| a) Etudes in vitro | 105 |
| b) Etudes cliniques | 105 |
| c) Méta-analyse..... | 108 |
| 7. L'ATROPHIE VAGINALE | 109 |
| VI. CONSEILS A L'OFFICINE | 114 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... | 117 |
| TABLES DES ANNEXES | 129 |

Liste des figures

| | | |
|---|---|----|
| FIGURE 1 : TOFU (1) | FIGURE 2 : SAUCE CONDIMENT ASIATIQUE (2) | 9 |
| FIGURE 3 : SOUPE MISO (3) | | 9 |
| FIGURE 4 : LE SOJA. (8) | | 12 |
| FIGURE 5 : (A) STRUCTURE DES PRINCIPALES ISOFLAVONES AVEC UNE ACTIVITE ESTROGENIQUE. (B) STRUCTURE DES PRINCIPAUX GLUCOSIDES DES ISOFLAVONES PRESENTS DANS LES PLANTES. (C) STRUCTURE TRIDIMENSIONNELLE DE LA 17B-E. (D) STRUCTURE TRIDIMENSIONNELLE DU S-EQUOL, METABOLITE ACTIF DE LA DAIZEINE. (14) | | 17 |
| FIGURE 6 : STRUCTURE CHIMIQUE DE LA 17-B-ESTRADIOL (17B-E). (14) | | 17 |
| FIGURE 7 : SCHEMA RESUMANT LES DIVERSES VOIES DE SIGNALISATION DES RES (24). | | 24 |
| FIGURE 8 : SCHEMA ILLUSTRANT LES PRINCIPALES VOIES DE SIGNALISATION ACTIVEES SUITE A UNE STIMULATION DE GPER ET REA (25). | | 25 |
| FIGURE 9 : BIOSYNTHESE DES HORMONES SEXUELLES (36). | | 34 |
| FIGURE 10 : AXE HYPOTHALAMO-HYPOPHYSO-GONADIQUE ET RETROCONTROLE NEGATIF EXERCE PAR LES HORMONES STEROÏDIENNES (38). | | 36 |
| FIGURE 11 : REPRESENTATION SCHEMATISEE DU CYCLE MENSTRUEL (61). | | 47 |
| FIGURE 12 : SCHEMA DU DESIGN DE L'ETUDE MULTIGENERATIONNELLE (76) ET DE L'ESSAI BIOLOGIQUE CHRONIQUE DE DEUX ANS (77) DU NTP. (75) | | 54 |
| FIGURE 13 : ANATOMIE DU SEIN, OBSERVATION EN COUPE PARA-SAGITTALE SCHEMATIQUE PASSANT PAR LE MAMELON. (102) | | 68 |

Liste des tableaux

| | |
|---|-----|
| TABLEAU 1 : CARACTERISTIQUES BOTANIQUES PERMETTANT LA RECONNAISSANCE DE <i>GLYCINE MAX.</i> ----- | 11 |
| TABLEAU 2 : L'AGRICULTURE MONDIALE DU SOJA EN CHIFFRE POUR L'ANNEE 2018 : PRINCIPAUX PAYS PRODUCTEURS PAR CONTINENT (9).----- | 13 |
| TABLEAU 3 : PRINCIPAUX COMPOSES OBTENUS A PARTIR DU SOJA ET LEURS PRINCIPALES UTILISATIONS (10).-- | 14 |
| TABLEAU 4 : COMPOSITION NUTRITIONNELLE DES GRAINES DE SOJA. ----- | 15 |
| TABLEAU 5 : LE SOJA, SOURCE D'ISOFLAVONES A ACTIVITE ESTROGENIQUE (EXPRIME EN $\mu\text{G}/100\text{G}$) (14). ---- | 18 |
| TABLEAU 6 : ENONCIATION DES PRINCIPAUX TISSUS OU SONT EXPRIMES LES RES (22,23). ----- | 23 |
| TABLEAU 7 : EXEMPLE DE PRODUITS ALIMENTAIRES SOURCES D'ISOFLAVONES A ACTIVITE ESTROGENIQUE (QUANTITE EN $\mu\text{G}/100\text{G}$ OU $\mu\text{G}/100\text{ML}$) (14).----- | 27 |
| TABLEAU 8 : COMPLEMENTES ALIMENTAIRES CONTENANT DES ISOFLAVONES DE SOJA PRESENTS SUR LE MARCHÉ EUROPEEN EN 2005 (14). ----- | 29 |
| TABLEAU 9 : LES PHYTO-ESTROGENES ET LEURS EFFETS POSITIFS POUR NOTRE SANTE (31).----- | 30 |
| TABLEAU 10 : QUANTITES D'ISOFLAVONES MOYENNES JOURNALIERES CONSOMMEES ET LES CONCENTRATIONS SPERMATIQUES EN SPERMATOZOÏDES PAR RAPPORT AUX SUJETS CONTROLES (57). ----- | 44 |
| TABLEAU 11 : EXEMPLE DE PORTIONS ALIMENTAIRES EQUIVALENTES A LA QUANTITE MOYENNE D'ISOFLAVONES CONSOMMEES LORS DE CETTE ETUDE.----- | 44 |
| TABLEAU 12 : CONCENTRATIONS SANGUINES DE LA GENISTEINE CHEZ DES ENFANTS AYANT CONSOMME DES FORMULES INFANTILES A BASE DE SOJA, ET CHEZ DES RATS AYANT CONSOMME UNE ALIMENTATION ENRICHIE EN GENISTEINE DANS L'ETUDE MULTIGENERATIONNELLE (75). ----- | 55 |
| TABLEAU 13 : DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES DU CANCER DU SEIN EN FRANCE METROPOLITAINE EN 2018 (99). ----- | 67 |
| TABLEAU 14 : CLASSIFICATION DERIVEE DE L'AMERICAN COLLEGE OF RADIOLOGY (ACR). ----- | 72 |
| TABLEAU 15 : RECEPTEURS EXPRIMES PAR LES CELLULES CANCEREUSES, ET LEURS EFFETS (25,105).----- | 73 |
| TABLEAU 16 : CARACTERISTIQUES PERMETTANT DE DONNER LE GRADE HISTOPRONOSTIQUE SELON ELSTON ELLIS. ----- | 75 |
| TABLEAU 17 : CLASSIFICATION MOLECULAIRE DES TUMEURS. ----- | 77 |
| TABLEAU 18 : INDICATIONS ET MODALITES DES DIFFERENTS TYPES DE CHIMIOTHERAPIE. ----- | 79 |
| TABLEAU 19 : DESCRIPTION DES MEDICAMENTS DE LA THERAPIE CIBLEE (109).----- | 80 |
| TABLEAU 20 : STRATEGIES THERAPEUTIQUES DE L'HORMONOTHERAPIE SELON LE STATUT MENOPAUSIQUE. --- | 82 |
| TABLEAU 21 : MEDICAMENTS UTILISES DANS L'HORMONOTHERAPIE (109). ----- | 83 |
| TABLEAU 22 : INDICATIONS ET CONTRE-INDICATIONS DES THM (102,109). ----- | 98 |
| TABLEAU 23 : ESTROGENES UTILISES ET LEUR VOIE D'ADMINISTRATION (102).----- | 99 |
| TABLEAU 24 : PROGESTATIFS UTILISES AU COURS DU THM ET LEUR VOIE D'ADMINISTRATION (102).----- | 99 |
| TABLEAU 25 : LISTE NON EXHAUSTIVE DE COMPLEMENTES ALIMENTAIRES A BASE D'ISOFLAVONES DE SOJA PRESENTES COMME REMEDE AUX MAUX DE LA MENOPAUSE. (109) ----- | 101 |
| TABLEAU 26 : COMPOSITION EN ISOFLAVONES DES COMPLEMENTES ALIMENTAIRES UTILISES DANS L'ETUDE (134). ----- | 106 |
| TABLEAU 27 : METHODOLOGIE ET RESULTATS DES ETUDES ANALYSEES DANS LA META-ANALYSE (139) PORTANT SUR LA DYSpareunie ET LA SECHERESSE VAGINALE. ----- | 111 |
| TABLEAU 28 : METHODOLOGIE ET RESULTATS DES ETUDES ANALYSEES PORTANT SUR L'INDEX DE MATURATION ET LA VALEUR DE MATURATION VAGINALE (139).----- | 112 |
| TABLEAU 29 : CONSEILS SELON LE PROFIL DU PATIENT. ----- | 114 |

Liste des abréviations

| | |
|---|--|
| 17βE : 17-β-estradiol | GPÉR : Récepteur aux estrogènes couplé aux protéines G |
| ABP : <i>Androgen Binding Protein</i> | HAS : Haute Autorité de Santé |
| ACR : <i>American College of Radiology</i> | HCG : Hormone Chorionique Gonadotrophine Humaine |
| ACTH : Hormone corticotrope ou adrénocorticotrophine | HDL : Lipoprotéine de haute densité |
| ADN : Acide Désoxyribonucléique | HER2 : Récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain (<i>Human Epidermal Growth Factor Receptor-2</i>) |
| AFP : α-foetoprotéine | IC50 : Concentrations inhibitrices médianes |
| AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments | IGF-1 : Facteur de croissance insuline-like 1 |
| AINS : Anti-inflammatoires Non Stéroïdiens | IgG : Immunoglobine de type G |
| AMH : Hormone Antimüllérienne | IM : Index de Maturation |
| AMM : Autorisation de Mise sur le Marché | IMC : Indice de Masse Corporelle |
| APO : Aire Préoptique | IRM : Imagerie par Résonance Magnétique |
| ARN : Acide Ribonucléique | KI : Index de Kupperman |
| ARNm : Acide Ribonucléique messenger | LDL : Lipoprotéine de basse densité |
| ASD-APO : Aire Sexuellement Dimorphique de l'Aire Préoptique | LH : Hormone Lutéinisante |
| CI : Contre-indication | MCF-7 : Cellules cancéreuses mammaires humaines (<i>Michigan Cancer Foundation-7</i>) |
| DHA : Déhydroépiandrostérone | mRE : Récepteur aux estrogènes membranaire |
| EFSA : <i>European Food Safety Authority</i> | MRS : <i>Menopause Rating Scale</i> |
| EGFR : Facteur de croissance épidermique (<i>Epidermal Growth Factor</i>) | mTOR : <i>Mammalian Target of Rapamycin-Cible</i> |
| EI : Effet Indésirable | NDA : <i>Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies</i> |
| EREs : Eléments de réponse aux estrogènes | NOEL : Niveau de dose sans effet observable |
| F : Biodisponibilité | |
| FSH : Hormone FolliculoStimulante | |
| GnRH : Gonadolibérine | |

NTP : *National Toxicology Program*

OGM : Organisme Génétiquement Modifié

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PET-TDM : Tomographie par émission de positons (PET Scan)

PG : Prostaglandine

PND : Jour post-natal (*Post-Natal Day*)

PSAI : *Pre-School Activities Inventory*

RCP : Réunion de Concertation
Pluridisciplinaire

RE : Récepteur aux estrogènes

RH : Récepteurs hormonaux

RP : Récepteur à la progestérone

S-Eq : S-equol

SBR : Scarff Bloom et Richardson

SHBG : Globulines liant les hormones sexuelles (*Sex Hormone-Binding Globulin*)

SULT : Sulfotransférases

$T_{1/2}$: Demi-vie d'élimination

T_{max} : Temps auquel la concentration maximale est atteinte

TDM : Tomodensitométrie

THM : Traitement hormonaux substitutifs de la ménopause

UDP : Uranyldiphosphate

UGT : UDP-glucuronyltransférases

VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*

Introduction



Figure 1 : Tofu (1)



Figure 2 : Sauce condiment asiatique (2)

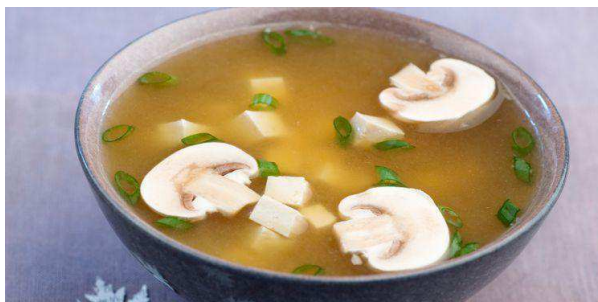


Figure 3 : Soupe miso (3)

Vous avez déjà vu/mangé ces produits alimentaires. Vous savez, bien sûr, qu'ils sont tous élaborés à partir du soja. Oui le soja, cette légumineuse en vogue !

Et pour cause, le soja est très intéressant d'un point de vue nutritionnel. Les végétariens et végétaliens l'ont bien compris. Ils l'ont entièrement adapté à leur alimentation pour leur assurer un apport en protéines végétales important.

Le soja est aujourd'hui très présent dans nos assiettes, surtout lorsqu'il s'agit de plats asiatiques. Cela fait des siècles qu'il est présent aux côtés de l'être humain.

En effet, le soja est une légumineuse domestiquée il y a bien longtemps. Sa première trace a été découverte sur le site néolithique de Baligang à la période Shijiahe (2500 - 2000 avant J.C.) en Chine (4). L'utilisation première des ancêtres du soja était comme engrais vert pour la rotation des cultures. Il était difficile de les consommer car les graines étaient beaucoup plus dures et petites.

De nos jours, au-delà de ces qualités nutritives, le soja attire pour ses possibles qualités thérapeutiques. En effet, il contient des isoflavones, composants qualifiés de phyto-estrogènes car leur structure chimique ressemble à celle de l'estradiol, l'hormone sexuelle principale de la femme.

La présence de ces phyto-estrogènes lui a valu des allégations thérapeutiques telles que :

- Traiter les symptômes de la ménopause ;
- Être anti-cancer ;
- Prévenir l'ostéoporose.

Ces allégations thérapeutiques ont été largement relayées par la presse féminine ou encore des médecins, tels qu'Henri Joyeux dans son ouvrage "Changer d'alimentation" (5) vendu à plus de 300 000 exemplaires.

Tout ceci nous amène aujourd'hui avec un nombre important sur le marché de compléments alimentaires enrichis en isoflavones de soja, visant essentiellement les femmes ménopausées symptomatiques.

Mais sont-ils réellement efficaces ? Une alimentation riche en soja nous amènerait-elle une quantité importante de phyto-estrogènes ? Et qu'en est-il réellement de leurs effets sur notre organisme et notre santé ?

Hippocrate disait : "*Que ton aliment soit ta seule médecine*".

Mais à quel point ?

Henri Joyeux émettait déjà des réserves en 2013 dans son livre en soulignant "qu'il ne faut pas prescrire ou consommer des phytohormones en excès (soja, surtout, sous toutes ses formes) quand il y a eu un cancer ou même un pré-cancer".

Qu'en est-il aujourd'hui, que savons-nous sur les bienfaits comme les méfaits du soja et de ses phyto-estrogènes ?

Ce sont les informations que j'ai essayé de collecter au travers des études menées sur le sujet, afin de pouvoir dans mon exercice officinal, prodiguer des conseils adéquats, adaptés au profil du patient, afin de lui garantir aussi bien l'efficacité que l'innocuité des produits qu'il consomme.

I. Le soja

1. Description de la plante (6,7)

La classification phylogénétique des plantes est déterminée grâce à certaines caractéristiques botaniques spécifiques acquises au cours de leur évolution. Nous pouvons ainsi les classer en subdivisions, familles et sous-familles.

Soja, *Glycine max* (L) Merrill

- Groupe des Angiospermes
- Subdivision : Dicotylédone (ligné : Eudicotylédone)
- Sous-classe : Rosidée
- Famille : Fabacée (légumineuse)
- Sous-famille : Faboïdée (ancien Papilionacée)

Les caractéristiques botaniques de la plante du soja sont exposées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1 : Caractéristiques botaniques permettant la reconnaissance de *Glycine max*.

| Appartenance | Caractéristiques |
|---|---|
| Dicotylédone (2 cotylédons au niveau de l'embryon) | <ul style="list-style-type: none">- Tigelle terminale- Les pousses annuelles successives se forment en continuité à partir de bourgeons terminaux ou subterminaux des pousses de l'année précédente (croissance monopodiale)- Structure anatomique de la tige : cercle de tissus libéroligneux continu ou divisé en faisceaux cribrovasculaires sur un seul cercle- Feuilles larges, nervures ramifiées- Verticilles floraux composés de 5 pièces |
| Fabacée | <ul style="list-style-type: none">- Fruit = gousse (follicule déhiscent par deux fentes longitudinales en 2 valves portant chacune 2 rangées de graines) → Fruit simple dérivant d'un ovaire unique d'une fleur, fruit sec- Les graines sont exalbuminées |
| Faboïdée | <ul style="list-style-type: none">- Fleur zygomorphe (= fleur à symétrie bilatérale), comportant 5 pétales dont 2 soudées en une carène qui entoure 10 étamines (9 soudées par leurs filets, la 10^{ème} libre) + un ovaire- Nodosités racinaires renfermant <i>Rhizobium</i>, bactérie fixatrice d'azote- Feuilles composées, pennées stipulées alternes |



Figure 4 : Le soja. (8)

2. Culture mondiale du soja en 2018 (9,10)

Le soja en quelques données :

- Il représente 61% de la production mondiale d'oléagineux.
- Il est la 4^{ème} plus importante culture dans le monde en termes de superficie récoltée et de production en 2018.
- Il est une des sources de protéines les plus importantes et les moins chères produites dans le monde.
- Aux Etats-Unis, le soja est en première place exæquo avec le maïs concernant la superficie agricole.
- Sa production a plus que doublé en 20 ans (données entre 1988 et 2018).
- 70% de la production mondiale de soja est transgénique (Organisme Génétiquement Modifié, OGM) (11).
- En France, le soja produit est non OGM. 20% de cette production est utilisée par l'industrie agro-alimentaire humaine, et les 80% restants sont destinés à nourrir le bétail (12).
- La France est majoritairement dépendante de l'importation de soja, venant principalement d'Amérique du Sud. Son utilisation est réservée en premier lieu pour l'alimentation animale, puis pour des produits alimentaires manufacturés contenant du soja.

Tableau 2 : L'agriculture mondiale du soja en chiffre pour l'année 2018 : principaux pays producteurs par continent (9).

| Pays | Superficie récoltée en ha (données officielles) | Rendement en hg/ha (données calculées) | Production en tonnes (données officielles) |
|-------------------------|---|--|--|
| Union Européenne | 955 670 | 29 668 | 2 835 295 |
| Italie | 326 587 | 34 876 | 1 138 993 |
| Roumanie | 168 709 | 27 598 | 465 609 |
| France | 153 747 | 26 036 | 400 292 |
| Amérique du Nord | 38 196 840 | 63 294 | 130 930 830 |
| Etats-Unis | 35 657 240 | 34 681 | 123 664 230 |
| Canada | 2 539 600 | 28 613 | 7 266 600 |
| Amérique du Sud | 111 780 420 | 272 116 | 168 381 111 |
| Brésil | 34 771 690 | 33 903 | 117 887 672 |
| Argentine | 16 318 060 | 23 157 | 37 787 927 |
| Uruguay | 1 099 000 | 12 138 | 1 334 000 |
| Paraguay | 3 510 000 | 31 470 | 11 045 971 |
| Mexique | 190 628 | 16 997 | 324 011 |
| Pérou | 832 | 18 393 | 1 530 |
| Asie | 21 074 542 | 14 524 | 30 608 520 |
| Chine | 7 973 877 | 17 800 | 14 193 621 |
| Inde | 11 400 000* | 12 093 | 13 786 000 |
| Indonésie | 723 804 | 13 174 | 953 571 |
| Japon | 146 600 | 14 413 | 211 300 |

*donnée non officielle

Premier producteur mondial de soja, les Etats-Unis exportent 41% de leur production totale, suivis par le Brésil en deuxième position.

La France est le 3^{ème} plus gros producteur de soja sur le continent européen. Mais le soja n'est qu'à la 3^{ème} place du palmarès des oléagineux produits en France, derrière le colza et le tournesol.

Entre 2017 et 2018, les surfaces de cultures du soja ont augmenté de 8%, compensant la baisse des surfaces des céréales, protéagineux et des betteraves industrielles. Les oléagineux occupent une place de plus en plus importante et représentent aujourd'hui 20% des surfaces agricoles françaises (13).

Le soja est produit dans le but de récupérer divers composés, illustrés dans le tableau suivant :

Tableau 3 : Principaux composés obtenus à partir du soja et leurs principales utilisations (10).

| Composés récupérés | Utilisation |
|--|--|
| Huile de soja | Production de produits alimentaires (margarine, huile de cuisson...), car contient des $\omega 3$ et des $\omega 6$. Production industrielle de plastiques et de biodiesel |
| La lécithine (extraite de l'huile de soja) | Emulsifiant et lubrifiant naturel dans les industries pharmaceutiques (production de gélules par exemple) et industries agroalimentaires |
| Les tourteaux de soja | Produits à partir de la graine broyée et deshuilée. Ils peuvent être utilisés directement en alimentation animale, par des filières françaises en label sans OGM, ou transformés en protéines texturées (flocons) voir ci-dessous |
| Les flocons de soja | Utilisés pour être transformés <ul style="list-style-type: none"> - en divers produits alimentaires procurant des protéines végétales - en farine de soja utilisée dans l'agroalimentaire tel que le secteur de la boulangerie ou de la pâtisserie industrielle, mais aussi dans le secteur alimentaire animal (production de croquettes etc.) |
| Les coques de soja | Transformées en pains de son de fibres, en céréales et autres dérivés |

Au vu de la faible production française par rapport à d'autres pays, la majeure partie du soja utilisée en France est importée. La France exporte très peu sa production, et principalement en Europe. Le soja français est surtout utilisé dans l'industrie agroalimentaire, essentiellement pour l'alimentation animale (3/4 de la production), et pour la production d'huile végétale (13).

3. Apports nutritifs (4)

La valeur nutritionnelle du soja réside dans sa composition en protéines, fibres, acides gras polyinsaturés et acides aminés.

Tableau 4 : Composition nutritionnelle des graines de soja.

| Glucides | Protéines | Matière grasse | Fibres | Acides aminés |
|----------|-----------|----------------|--------|--|
| 30 % | 42% | 21% | 10% | Représentent 38,1% des protéines dans la farine de graines de soja En proportion : Acide glutamique > Acide aspartique > Lysine > Arginine > Leucine > Serine > Thréonine > Proline > Glycine > Phénylalanine > Alanine > Isoleucine > Histidine > Tyrosine > Valine > Cystéine > Méthionine > Tryptophane |

Globalement, les légumineuses contiennent une quantité faible d'acides aminés dits essentiels (c'est-à-dire non synthétisés par l'Homme). Dans le soja, les principaux acides aminés retrouvés en faible quantité sont les acides aminés soufrés (méthionine, cystéine) et le tryptophane (précurseur de la sérotonine, un neurotransmetteur). C'est pour cela qu'elles sont considérées comme une source incomplète de protéines et souvent associées dans l'alimentation à d'autres légumineuses ou céréales (par exemple, association du tofu et du riz en Asie). Pour avoir un bon équilibre nutritionnel, il faudrait consommer des légumineuses et des céréales avec un ratio de 35/65%.

La valeur nutritionnelle prend aussi en compte la digestibilité du produit. Cette dernière est limitée par la présence de facteurs antinutritionnels potentiellement toxiques, produits par les légumineuses afin de diminuer leur attrait alimentaire et leur digestion. Ces facteurs antinutritionnels permettraient de limiter la prédation de la plante crue.

Le soja contient divers facteurs antinutritionnels :

- De l'acide phytique et des tanins qui limitent la biodisponibilité de certains minéraux, notamment le fer,
- Des hémagglutinines (principalement dans les graines) qui provoquent la précipitation des érythrocytes et leucocytes si elles atteignent le compartiment sanguin,
- Des lipoxygénases qui altèrent la qualité des acides gras polyinsaturés ($\omega 3$ et $\omega 6$) en induisant leur oxydation,
- Des saponines qui peuvent altérer l'épithélium entérocytaire et favoriser le passage intestinal des hémagglutinines,
- Des protéines allergéniques,

- Des facteurs anti-protéases (facteur Kunitz et Bowman-Birk) qui réduisent la digestion des protéines au niveau de l'estomac,
- Les légumineuses en général et le soja en particulier, contiennent des oligosaccharides de la famille des raffinoses qui induisent une fermentation intestinale et des ballonnements.

Pour consommer cette plante, l'Homme a donc inventé des processus de préparation, de cuisson, utilisant ou non la fermentation, permettant d'inactiver partiellement ou totalement ces facteurs antinutritionnels.

Au-delà de la valeur nutritionnelle, il faut aussi prendre en compte la présence de composés bioactifs, pouvant avoir un impact sur l'Homme. En effet, le soja contient des isoflavones qui sont bioactifs dans notre organisme après ingestion. Il est donc important de connaître et comprendre les effets de ces composés bioactifs sur l'organisme humain pour éviter leurs possibles impacts sur la santé et sur certaines pathologies. Nous pourrions ainsi espérer déterminer les doses journalières nous permettant de profiter des apports nutritionnels en évitant les effets négatifs.

II. Les phyto-estrogènes

1. Présentation

Un phyto-estrogène est une phyto-alexine, molécule synthétisée par l'organisme végétal. Il est donc endogène à la plante et possède certaines caractéristiques :

- Il est oligodynamique (distinction avec les substances trophiques).
- C'est une molécule signal, un messenger pour une cellule cible sensible à son action, et influence son fonctionnement.
- C'est une molécule de défense produite lors d'attaques extérieures (par des prédateurs par exemple).

Certaines de ces molécules sont appelées phyto-estrogènes car elles exercent des effets estrogéniques dans l'organisme humain. Cela est dû à leur structure chimique semblable à celle de la 17- β -estradiol (17 β E), hormone sexuelle humaine naturellement produite par les ovaires et le placenta principalement.

La classe de phyto-estrogènes la plus importante en termes d'activité et de concentration est celle des **isoflavones**. Ces substances sont actives sous forme libre, et généralement considérées comme inactives sous forme conjuguée (certaines cellules étant capables de produire des composés aglycones actifs).

Les isoflavones les plus répandues sont la **génistéine**, la **daidzéine** et la **glycitéine**.

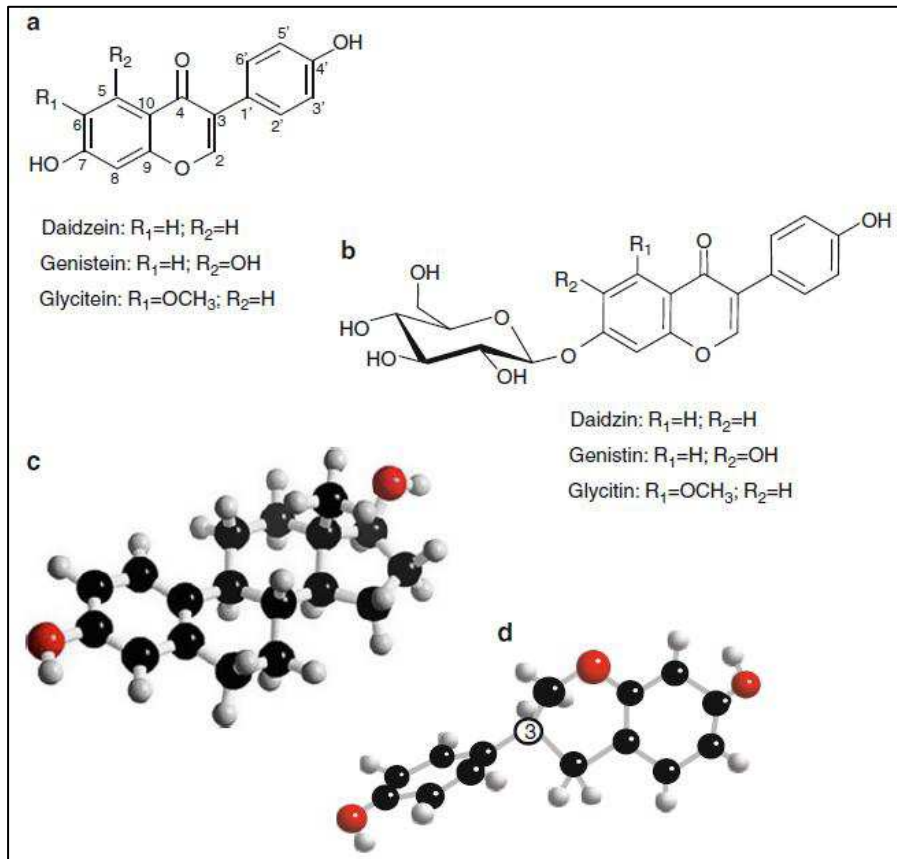


Figure 5 : (a) Structure des principales isoflavones avec une activité estrogénique. (b) Structure des principaux glucosides des isoflavones présents dans les plantes. (c) Structure tridimensionnelle de la 17β -E. (d) Structure tridimensionnelle du S-Equol, métabolite actif de la daizéine. (14)

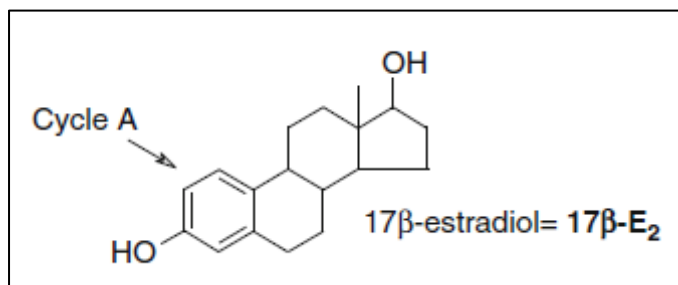


Figure 6 : Structure chimique de la 17β -estradiol (17β E). (14)

Les formes libres et conjuguées de la daidzéine et de la génistéine représentent respectivement 30% et 60% de la quantité totale d'isoflavones dans le soja (14).

2. Origine végétale des isoflavones

Les isoflavones sont principalement retrouvées dans les légumineuses. Les haricots rouges, le soja, le kudzu, la luzerne et le trèfle sont les plantes qui en contiennent les plus grandes concentrations.

Tableau 5 : Le soja, source d'isoflavones à activité estrogénique (exprimé en µg/100g) (14).

| | Daidzéine | Génistéine |
|---|-----------|------------|
| Graines de soja | 27 126,7 | 19 787,7 |
| Germes de soja (haricot mungo) | 2 424,4 | 1 974,9 |
| Le soja | 47 000 | 74 000 |

Chez les plantes, les isoflavones ont un rôle (14):

- Antimicrobien,
- De protection contre les infections, principalement fongiques (activité antifongique importante),
- Contre le stress lié à l'eau,
- Contre le pâturage des prédateurs mammifères car ces composés estrogéniques perturbent leur reproduction.

La quantité d'isoflavones dans le soja dépend de divers facteurs environnementaux et génétiques (14):

- La génistéine joue un rôle d'attractant dans la relation symbiotique entre le soja et *Bradyrhizobium japonicum*, bactérie du genre Rhizobium, fixatrice d'azote atmosphérique permettant la croissance de la plante.
- Une haute concentration en isoflavones peut refléter une infection fongique saprophytique, par *Mucor ramosissimus* par exemple.
- Des méthodes d'agriculture :
 - L'irrigation augmente de 2,5 fois leur concentration.
 - La quantité de génistéine et daidzéine est corrélée à la quantité de potassium dans les racines. Ce qui explique l'utilisation de fertilisants riches en potassium dans les champs de culture.
 - Notons que la culture biologique peut produire du soja contenant une grande quantité d'isoflavones. En effet, en l'absence de traitements, la plante développe d'autant plus ses propres mécanismes de défense envers les agressions extérieures et donc produit plus d'isoflavones.

Pour l'agriculture, il est donc intéressant de sélectionner des espèces de soja produisant une grande quantité d'isoflavones car cela augmente les chances de survie et donc de fertilité de la plante.

C'est ainsi que certains se sont intéressés à des modifications génétiques de la plante pour favoriser sa culture de masse en améliorant sa résistance au stress environnemental et donc sa fertilité (15–18).

3. Pharmacocinétique (14,19,20)

a) Absorption

De tous les polyphénols connus, les isoflavones sont celles qui ont la meilleure biodisponibilité (F). A partir d'une certaine quantité consommée, F peut atteindre 60-80%. De plus, la biodisponibilité des isoflavones contenues dans les compléments alimentaires est supérieure à celle des isoflavones contenues dans les aliments.

Les isoflavones sont absorbées par diffusion passive au niveau de l'intestin grêle supérieur.

Dans certains travaux, des auteurs expliquent que c'est la lactase-phloridzine hydrolase qui permet à la fois la déglycosylation et le transport transmembranaire des isoflavones sous forme aglycone (20).

Le T_{max} (temps au bout duquel la concentration maximale est atteinte) est atteint entre 6-8h après l'ingestion (cela dépend du composé considéré).

Le T_{max} de S-Equol (métabolite actif de la daidzéine) est entre 16-18h car il est généré par transformation intestinale de la daidzéine et son absorption se fait au niveau du colon.

b) Métabolisation

Lors de la consommation de soja, les glycosides d'isoflavones (formes principales contenues dans la plante) sont hydrolysés par des glycosidases présentes à la surface de nos entérocytes. En effet, aucune forme glycoside n'a été retrouvée dans les fèces, les urines ou le sang.

La déglycosylation engendre un composé aglycone, capable de passer la barrière entérocytaire. Ce composé va subir les 3 phases enzymatiques de détoxification :

- Phase 1 : hydroxylation par des hydrolases (réaction de fonctionnalisation) dans l'intestin.
- Phase 2 (réactions de conjugaison) : glucuronidation ou sulfatation, réalisée principalement par des sulfotransférases (SULT) et glucuronyltransférases liées à des molécules d'uranyldiphosphate (UDP) appelées UGT.

Ces réactions sont incomplètes dans l'intestin et finalisées dans le foie.

Ces enzymes ont diverses isoformes pouvant être spécifiques de certains substrats. Du fait de la similarité de structure entre les isoflavones et la 17 β E, cela peut engendrer des activités croisées des enzymes à UGT. En effet UGT1A est responsable de la glucuronidation de la 17 β E en C3 dans les microsomes hépatiques, et peut aussi avoir comme substrat la génistéine et la daidzéine : à dose physiologique, l'UGT1A-9 peut conjuguer les isoflavones.

En règle générale, un substrat peut moduler l'activité de ses enzymes. C'est le cas des isoflavones à forte concentration : elles peuvent moduler l'activité de certaines enzymes de la phase 2 impliquées dans la conjugaison de la 17 β E, ce qui influence de manière complexe la biodisponibilité de l'hormone dans les tissus.

Les métabolites secondaires créés sont excrétés dans la bile et déconjugués au niveau de l'intestin inférieur, permettant leur réabsorption au niveau de la lumière duodénale, créant ainsi une circulation entéro-hépatique.

- Phase 3 : expulsion de la cellule des composés polyphénols conjugués.

Les isoflavones subissent aussi des métabolisations par les bactéries intestinales. En effet, la daidzéine est transformée dans l'intestin en *o*-desmethyl-angolensine et la génistéine en *p*-ethylphenol. Ces composés sont retrouvés dans la circulation sanguine mais n'ont pas d'activité estrogénique. La daidzéine peut aussi être transformée en S-Equol (S-Eq). Mais cette transformation est en faible proportion chez l'homme (20-45%), et plus importante chez le rat et la souris.

c) Distribution

Le temps de séjour dans le plasma est supérieur pour la génistéine par rapport à la daidzéine et une consommation chronique de produits à base de soja peut engendrer une concentration plasmatique à l'état d'équilibre.

Les isoflavones peuvent se lier de manière aspécifique aux protéines spécifiques liant la 17 β E et la testostérone dans le plasma, avec une faible affinité.

Dans le plasma des adultes, ces protéines de transport sont des globulines liant les hormones sexuelles, appelées *Sex Hormone-Binding Globulin* (SHBG). Chez le fœtus et le nouveau-né, les protéines de transport sont les α -foetoprotéines (AFP).

Ces liaisons influencent l'excrétion des isoflavones et de la 17 β E. En effet, les formes liées sont inactives ; seules les formes libres sont actives, avec un état d'équilibre entre les deux formes. Une compétition entre les isoflavones et la 17 β E s'exerce au niveau de ces protéines de transport, influençant la concentration des formes libres actives de l'hormone ou des isoflavones, entraînant leurs activités estrogéniques au niveau cellulaire.

Des auteurs ont pu déterminer la concentration plasmatique des isoflavones dans diverses populations en ng/mL (études réalisées dans les mêmes conditions pour les deux types de populations) (14) :

- Population asiatique avec une alimentation traditionnelle : [150 - 219 \pm 330 ng/mL],
- Population caucasienne avec une consommation significative de soja et produits dérivés : [177 \pm 104 - 941 \pm 370 ng/mL].

Cette différence peut être due à l'origine ethnique et à l'effet de la flore bactérienne.

La concentration plasmatique des isoflavones peut être 10 000-100 000 fois supérieure à celle de la 17 β E.

d) Excrétion

La demi-vie d'élimination ($T_{1/2}$) des isoflavones est de 10-24h et peut être influencée par une réabsorption dans le cycle entéro-hépatique.

Les isoflavones sont éliminées dans les urines et les fèces principalement sous formes de glucuronides. Une faible proportion sous forme d'aglycone peut aussi être retrouvée.

Bien que l'isoflavone la plus ingérée en quantité soit la génistéine, la concentration urinaire est plus élevée pour la daidzéine en cas d'ingestion chronique. Cela ne reflète donc pas la quantité absorbée et les concentrations plasmatiques des isoflavones.

e) Modifications chimiques des isoflavones dans la nourriture

Initialement, le soja n'était pas considéré comme comestible par les asiatiques à cause de ses nombreux facteurs antinutritionnels. Cette plante était surtout utilisée en agriculture pour sa capacité à fixer l'azote atmosphérique. Puis le peuple asiatique a développé des techniques de transformation alimentaire pour rendre le soja comestible.

Les premiers procédés impliquaient la fermentation. Celle-ci était mise en œuvre sur des graines précuites et stérilisées par ébullition, ce qui réduisait les quantités d'isoflavones glycosylées. C'est le cas pour le Miso, le Natto ou le Tempeh. Puis est venue la recette du Tofu qui implique un trempage des graines, une cuisson dans l'eau et un broyage de ces graines. La suspension est ensuite filtrée pour obtenir du « jus de soja ». Ce jus est coagulé avec du Nigari (chlorure de magnésium) et pressée dans une presse adéquate. Le petit lait, qui contient beaucoup d'isoflavones, est éliminé (21). Le fromage de soja pressé peut être rincé 1 à 7 fois.

Ces techniques traditionnelles permettaient de réduire l'ensemble des agents antinutritionnels, y compris la quantité des isoflavones. Cependant, nos processus occidentaux de préparations de lait de soja et autres produits dérivés comme les yaourts, le tofu, ou les protéines extrudées utilisées pour les steaks de soja, sont bien différents de cette technique traditionnelle asiatique. En conséquence, les produits peuvent contenir en grande quantité des isoflavones à activité estrogénique.

Rappelons tout de même que la concentration de base de ces isoflavones dépend de nombreux facteurs lors de sa culture (infection fongique, conditions d'agriculture, espèce de plante génétiquement modifiée ou non...). Par conséquent, la teneur des produits en isoflavones peut énormément varier d'une marque à l'autre et même d'un lot à l'autre.

La cuisson ou autre processus de transformation alimentaire peuvent générer des conjugués acétyle ou malonyl des isoflavones glycosylées. Le composé aglycone des isoflavones est thermiquement très résistant, excepté en milieu acide. La cuisson ou encore l'extrusion n'affectent donc pas la composition en isoflavones des produits alimentaires à base de soja.

4. Mécanisme d'action (14)

Du fait de leur structure chimique similaire à celle de la 17 β E, les phyto-estrogènes agissent dans l'organisme via les récepteurs spécifiques aux estrogènes (RE), qui sont des récepteurs nucléaires.

Nous dénombrons aujourd'hui trois types de RE :

- RE α , codé par le gène ESR1 sur le chromosome 6 ;
- RE β , codé par le gène ESR2 sur le chromosome 14 et possédant divers sous-types (RE β 1 à 5) ;
- Le récepteur aux estrogènes couplé aux protéines G (GPER), codé par le gène GPER sur le chromosome 7. GPER est un récepteur transmembranaire appartenant à la famille des récepteurs à la rhodopsine et couplé aux protéines G.

La fixation d'un ligand (naturel comme la 17 β E, ou exogène comme les phyto-estrogènes) sur ces REs active leur fonction de facteur de transcription, ou d'activateur de cascades de signalisation cytoplasmique.

Malgré de possibles similitudes au niveau des poches de liaison aux ligands, ces deux grandes familles de REs (la première comportant RE α et RE β , et le GPER pour la deuxième) présentent de grandes différences au niveau de leur structure globale, pouvant expliquer une nette différence d'affinité des phyto-estrogènes. En effet, les concentrations inhibitrices médianes (IC50) pour les RE α et RE β sont de l'ordre de 1 μ M, alors qu'elles sont de l'ordre de 0,1 μ M pour le GPER.

Les RE α et RE β sont stockés dans le cytoplasme sous une forme de réserve liés à des protéines chaperonnes (Hsp70 et Hsp90). Lorsqu'un ligand se lie à ces récepteurs, il y a un changement de conformation des protéines démasquant un site de dimérisation. Cette dimérisation fait apparaître un site d'adressage nucléaire et il y a alors translocation du dimère vers le noyau cellulaire.

Le dimère (pouvant être un homodimère RE α -RE α , RE β -RE β ou un hétérodimère RE α -RE β) se lie alors à des éléments de réponses spécifiques appelés éléments de réponse aux estrogènes (EREs). Ceux-ci sont situés au niveau de la zone promotrice des gènes cibles. Ils contrôlent ainsi l'expression des gènes impliqués dans la prolifération et la différenciation cellulaire dans différents tissus cibles.

Les tissus et organes où ils sont exprimés sont décrits dans le tableau ci-dessous :

Tableau 6 : Enonciation des principaux tissus où sont exprimés les REs (22,23).

| | RE α | RE β | Co-expression RE α - RE β | GPER |
|---------------|--------------------------------|---|--|--|
| Tissus | Utérus Foie Rein Cœur | Ovaires Prostate Poumons Tractus gastro-intestinal Système nerveux central Système hématopoïétique Vessie | Glandes mammaires Epididyme Thyroïde Glandes surrénales Os Certaines régions cérébrales Hippocampe Système cardiovasculaire | Certaines régions cérébrales Placenta Ovaires Testicules Prostate Cœur Pancréas Poumons Muscles squelettiques Colon Tissus vasculaires et lymphoïdes |

L'expression des gènes cibles des REs peut aussi être médiée par deux autres voies :

- Une voie dépendante de la liaison d'un ligand : le complexe ligand-RE se lie à d'autres facteurs de transcription activant ainsi leurs fonctions d'expression et de régulation de gènes ;
- Une voie indépendante de la liaison d'un ligand : des facteurs de croissance activent des protéines kinases qui phosphorylent les REs nucléaires, entraînant leur activation et donc leur liaison aux EREs et l'expression de gènes cibles.

En plus de ces voies de signalisation génomiques, les REs utilisent aussi des voies de signalisation non génomiques. En effet, les REs peuvent être localisés à la membrane cellulaire (mRE), participant ainsi à une signalisation membranaire. Ils médient des actions non génomiques suite à la liaison d'un ligand, entraînant l'activation de protéines kinases qui altèrent la fonction de certaines protéines cytoplasmiques, activent la production endothéliale d'oxyde nitrique, ou encore phosphorylent des facteurs de transcription entraînant la régulation d'expression de gènes (24).

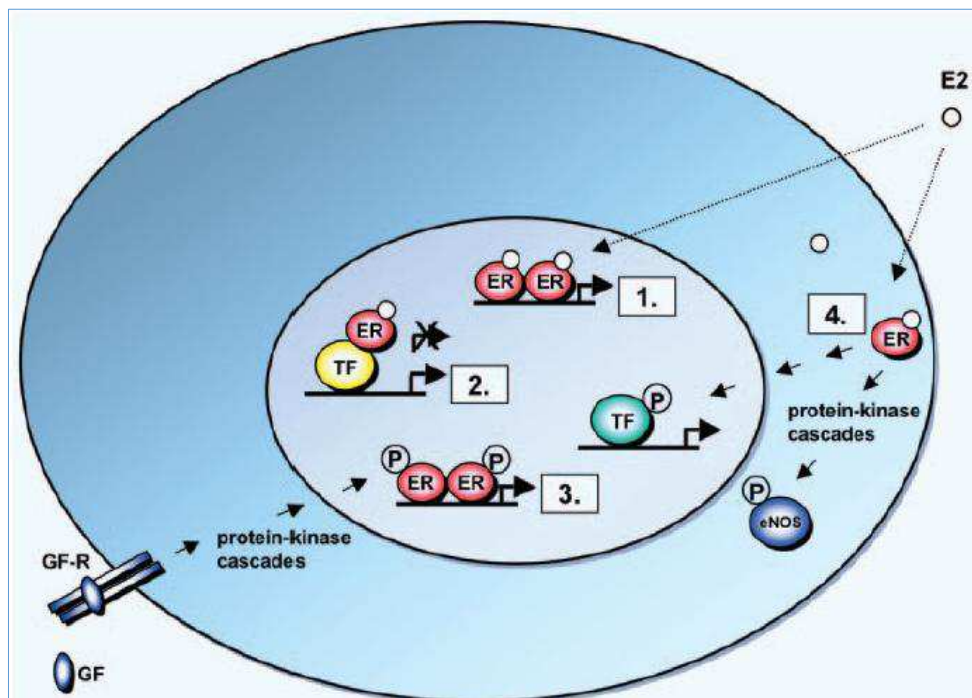


Figure 7 : Schéma résumant les diverses voies de signalisation des REs (24).

1. Voie classique : la 17 β E (E2) se lie au RE nucléaire, le complexe RE-E2 se lie directement au ERE sur le promoteur du gène cible.
2. Voie indépendante des EREs : le complexe nucléaire RE-E2 se lie à un facteur de transcription se liant lui-même au promoteur du gène cible.
3. Voie génomique indépendante de la liaison d'un ligand sur RE : un facteur de croissance (GF) se lie sur son récepteur (GF-R) entraînant l'activation d'une cascade de protéine kinase activant par phosphorylation les REs : liaison aux EREs et expression des gènes cibles.
4. Voie non génomique : liaison de la 17 β E sur RE, activation de cascades de protéine kinase : phosphorylation de facteur de transcription (expression de gène), de l'endothéliale oxyde nitrique synthase.

RE α et RE β sont génétiquement et fonctionnellement distincts. Ils peuvent être activés par les mêmes ligands, mais leur activation nécessite des cofacteurs de transcription (coactivateurs et corépresseurs) différents qui ne sont pas exprimés de la même manière dans toutes les cellules. Un stimulus estrogénique peut donc engendrer diverses réponses biologiques selon le récepteur, le ligand et les voies activés (22,24).

Lorsqu'ils sont coexprimés, l'activation de RE β entraîne une inhibition concentration-dépendante de l'expression des gènes médiée par RE α . En effet, ils n'ont pas la même affinité pour les divers cofacteurs de transcription, n'ont pas les mêmes voies de régulation, et donc pas les mêmes conséquences physiologiques et pathologiques (22).

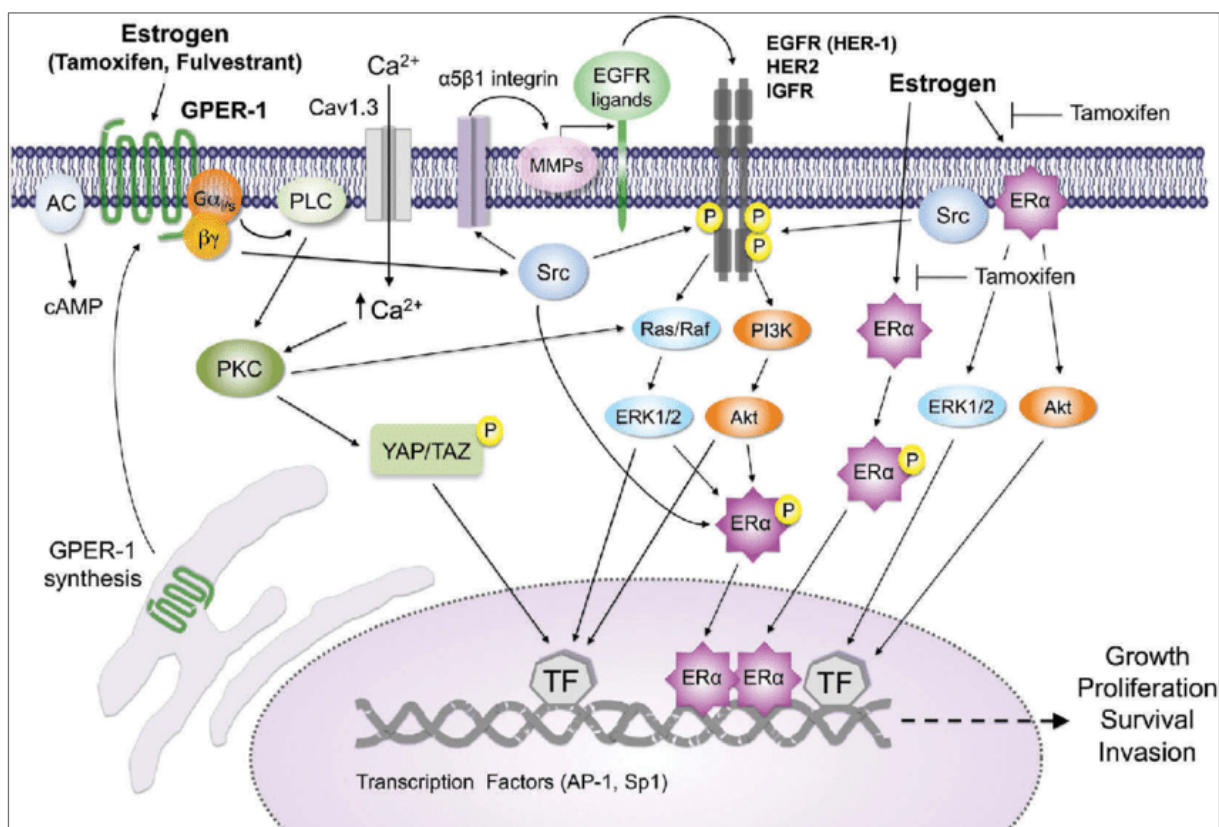


Figure 8 : Schéma illustrant les principales voies de signalisation activées suite à une stimulation de GPER et RE α (25).

Concernant le GPER, les estrogènes exogènes s'y lieraient de manière compétitive avec les estrogènes endogènes. Les effets médiés par les estrogènes endogènes via le GPER sont donc susceptibles d'être perturbés par les estrogènes environnementaux, tels que les isoflavones alimentaires (23).

Le GPER est souvent coexprimé avec les REs nucléaires par les lignées des cellules cancéreuses, pouvant indiquer une interrelation fonctionnelle entre ces deux classes de récepteurs aux estrogènes, comme cela est schématisé sur la figure 8.

Via ce récepteur, les effets estrogéniques sont non génomiques et très rapides, de l'ordre de quelques secondes à quelques minutes. L'activation de GPER induit la mobilisation des réserves intracellulaires de calcium, activant diverses cascades cytoplasmiques de phosphorylation et déphosphorylation impliquant les voies PI3K (phosphatidylinositol 3-OH kinase), MAPK (*mitogen-activated protein kinases*), ERK1/2 (*extracellular-regulated kinases 1 et 2*), SF1 (*Steroidogenic Factor 1*), AKT/protéine kinase B (14,26), mais aussi l'activation de l'adénylate cyclase entraînant une augmentation de l'AMPc (adénosine monophosphate cyclique), et la production d'oxyde nitrique endothéliale (27).

L'affinité des isoflavones est supérieure pour RE β par rapport à RE α , et est 10 fois plus forte pour le GPER que pour RE β . La génistéine est plus affine que la daidzéine. Mais l'activité transcriptionnelle est plus efficace via RE α .

Leur affinité pour les REs est tout de même inférieure à celle de la 17 β E car leur structure spatiale diffère : leur activité via les REs est donc 1/100 à 1/10 000 plus faible que celle de la 17 β E et dépend aussi du bagage enzymatique de la cellule cible.

A l'inverse, la 17 β E présente une affinité plus faible pour le GPER par rapport aux REs nucléaires. Ainsi, la différence d'affinité entre la 17 β E et la génistéine pour le GPER n'excède pas un facteur 10.

Pour avoir une activité estrogénique, il faut donc que les isoflavones soient présentes à haute concentration, d'autant plus que leur forme active non conjuguée ne représente que 1 à 5% de leur concentration plasmatique totale (19).

Les activités estrogéniques des isoflavones sont plus importantes lorsque la 17 β E est absente ou en faible concentration, concernant donc principalement les hommes, les jeunes, et les femmes en post-ménopause, car ils sont alors les composés estrogéniques majeurs dans l'organisme.

En revanche, chez les femmes non ménopausées et les femmes enceintes, la concentration plasmatique de 17 β E est élevée. Les isoflavones ne devraient alors pas avoir d'effets estrogéniques apparents, sauf si elles sont consommées en grandes quantités, voire un rôle anti-estrogène par antagonisme avec les estrogènes endogènes (14).

Attention tout de même chez les femmes enceintes car la 17 β E est normalement piégée par l'AFP dans le sang du fœtus et dans le placenta. Les vaisseaux placentaires sont sensibles aux estrogènes pouvant provoquer une vasoconstriction via les récepteurs RE β . Or les isoflavones ont une forte affinité pour ces derniers. Une grande consommation de soja est donc susceptible de provoquer une vasoconstriction placentaire et d'entraver la croissance et l'oxygénation du fœtus. Une réduction du poids de naissance est d'ailleurs observée chez les rats dans les études de toxicité transgénérationnelle, que nous détaillerons par la suite.

C'est pour cela qu'il peut y avoir une différence de biodisponibilité et d'effets entre l'homme et la femme.

Le S-Eq a une structure tridimensionnelle proche de la 17 β E, lui procurant une plus grande affinité pour les REs par rapport à son précurseur, la daidzéine (Fig.5). Mais sa concentration plasmatique est variable chez l'Homme et donc ses effets aussi.

En effet, selon la flore digestive bactérienne principalement, certaines personnes en produisent plus et sont dites équol-productives. Les effets des isoflavones sont ainsi probablement plus marqués chez certains individus. Par exemple, il a été observé que l'effet protecteur des isoflavones sur la perte osseuse lors de la ménopause est plus marqué chez les équol-productrices que chez les non-équol-productrices (28).

Autre fait important concernant le mécanisme d'action des phyto-estrogènes : plusieurs études ont montré qu'elles étaient à l'origine d'effets épigénétiques (14,29) et principalement la génistéine, molécule la plus étudiée sur ce sujet.

A doses alimentaires, ces effets épigénétiques seraient dus à :

- La méthylation de l'ADN (acide désoxyribonucléique) ;
- D'éventuelles modifications au niveau des histones ;
- La régulation de la synthèse de micro ARN (acide ribonucléique).

De plus, à hautes doses pharmacologiques (donc non pertinentes sur le plan alimentaire), les isoflavones, principalement la génistéine, pourraient déméthyliser les promoteurs des gènes suppresseurs de tumeur et ainsi activer leur expression. En revanche, nous ne pouvons pas aujourd'hui exclure un effet protecteur des isoflavones contre les cancers via ces effets épigénétiques, essentiellement la méthylation, prévenant l'expression d'oncogènes.

Ces effets épigénétiques, comme observés dans certaines études animales (14,29), seraient héréditaires.

Malgré tout, il serait intéressant de pousser les recherches en ce sens pour définir plus précisément les conséquences de ces effets épigénétiques, surtout s'ils sont héréditaires.

5. Exposition (14)

a) Alimentation

Les isoflavones, sous forme glycosylée dans la plante, sont solubles dans l'eau et liées de manière non covalente aux protéines. Elles sont ainsi moins présentes dans la phase lipidique de la plante. Par conséquent, leur quantité est très faible voire nulle dans l'huile ou la lécithine de soja. Mais les principales isoflavones, la daidzéine et la génistéine, sont présentes en grandes quantités dans les produits alimentaires à base de protéines de soja.

Tableau 7 : Exemple de produits alimentaires sources d'isoflavones à activité estrogénique (quantité en µg/100g ou µg/100mL) (14).

| Produits | | Daidzéine | Génistéine |
|--|----------------|------------------|----------------|
| Soupe miso | | 1 127,1 | 437,3 |
| Pousse de soja (haricots mungo) | | 2 424,4 | 1 974,9 |
| Germe de soja | | 27 126,7 | 19 787,7 |
| Sauce soja | | 233,1 – 1 127 | 59,9 – 627 |
| Tofu | | 3 400 – 14 900,6 | 4 200 – 20 000 |
| Yaourt au soja | | 5 818 – 13 000 | 9 000 – 13 000 |
| Lait de soja | | 1 650 – 5 023 | 2 530 – 6 290 |
| Lait infantile à base de soja (µg/100mL) | Gallia soja | 1 120 | 2 220 |
| | Similac isomil | 1 113,42 | 2 630,67 |
| | Modilac soja | 1 310 | 1 740 |

La consommation journalière d'isoflavones peut aller de quelques milligrammes jusqu'à 50mg par portion d'aliments à base de soja.

Les nourrissons nourris avec des formules infantiles à base de soja peuvent atteindre 3 à 7 mg/kg/jour alors que la limite fixée par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) en 2005 est de 1 mg/kg/jour (30).

Les laits pour nourrissons à base de soja ont été commercialisés pour les intolérants au lactose. Le soja est une source en protéine de qualité, mais ces laits infantiles contiennent une grande quantité d'isoflavones. Dans ce contexte, les enfants, avant l'introduction d'un régime alimentaire diversifié, sont exposés à des quantités d'isoflavones 5 à 11 fois plus importantes qu'un adulte ou qu'une femme ménopausée prenant des compléments alimentaires à base de soja.

En Asie, la consommation de soja est régulière, environ 2-7 plats par semaine.

Pour des raisons culturelles, la prise d'isoflavones est différente selon les pays :

- Chine : 25mg/jour
- Japon : 45-60mg/jour
- Europe : 2 à 5 mg/jour (mais avec une très grande variabilité inter-individuelle).

b) Compléments alimentaires

Les compléments alimentaires à base de phyto-estrogènes tirés du soja ont été mis sur le marché dans les années 1990 et largement conseillés comme traitement substitutif des symptômes liés à la ménopause (bouffées de chaleur, sueurs nocturnes, ou encore sécheresse vaginale).

En France, le marché des compléments alimentaires s'est fortement développé à partir de 1998, notamment suite à la baisse des prescriptions de traitement hormonal de la ménopause (THM) en 2003 (14). Cette décroissance de prescription de THM s'inscrit dans une mouvance où la population cherche à utiliser plus d'alternatives naturelles contre leurs maux. Certaines de ces alternatives naturelles, en ce qui concerne le traitement des symptômes accompagnant la ménopause, sont des compléments alimentaires pouvant contenir des suppléments en phyto-estrogènes, dont la concentration varie considérablement comme nous pouvons l'observer dans le tableau suivant tiré de l'article (14) présentant un grand nombre de compléments alimentaires présents sur le marché.

Pour des raisons que nous évoquerons par la suite, la promotion d'aliments riches en phyto-estrogènes tels que le soja, ou l'utilisation de compléments alimentaires à base de phyto-estrogènes doit être considérée de manière critique et adaptée à chaque femme, surtout s'il n'y a pas de suivi médical.

Tableau 8 : Compléments alimentaires contenant des isoflavones de soja présents sur le marché européen en 2005 (14).

| Soy based supplements | Manufacturer | Genistein (mg per tablet) | Daidzein (mg per tablet) | Total isoflavones (mg per tablet) | Intake per day (mg) |
|-----------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|-----------------------------------|---------------------|
| Anacaps | Ducray | 0.76 ± 0.07 | 0.63 ± 0.07 | 1.39 ± 0.15 | 2.8 ± 0.30 |
| Biopause | Monin Chanteaud | 1.4 ± 0.2 | 1.0 ± 0.1 | 2.45 ± 0.22 | 4.9 ± 0.44 |
| Biopause Fort | Monin Chanteaud | 0.4 ± 0.1 | 1.50 ± 0.2 | 1.9 ± 0.22 | 3.8 ± 0.44 |
| Bioptimum Soja | Boiron | 3.1 ± 0 | 5.9 ± 1.3 | 12.1 ± 0.55 | 24.2 ± 1.10 |
| Compleal | Besins Int. Nutraceutique | 28.5 ± 2.9 | 13.9 ± 0.7 | 42.4 ± 0.77 | 84.8 ± 1.5 |
| Cybestron | Vital | 0.07 ± 0.01 | <0.001 | 0.07 ± 0.01 | 0.07 ± 0.01 |
| Efodyne | Yves Ponroy | 1.5 ± 0.2 | 6.7 ± 1.0 | 8.20 ± 0.45 | 8.20 ± 0.45 |
| Elugyne | Dolisos | 2.7 ± 0.4 | 10.6 ± 1.6 | 13.30 ± 0.58 | 13.30 ± 0.58 |
| Estrofort | Rotapharm | 21.5 ± 1.9 | 10.0 ± 0.14 | 31.5 ± 0.58 | 31.5 ± 0.58 |
| Estronat | Lescuyer | 6.6 ± 1.0 | 6.5 ± 1.0 | 13.10 ± 0.58 | 39.3 ± 1.74 |
| Evestrel | Theramex | 11.6 ± 1.7 | 9.2 ± 1.4 | 20.80 ± 0.72 | 41.6 ± 1.44 |
| Evestrel jour/nuit | Theramex | 20.4 ± 2.3 | 6.6 ± 0.3 | 27.0 ± 0.66 | 54.0 ± 1.22 |
| Feminibiane | Pilege | 6.5 ± 0.2 | 5.2 ± 0.2 | 11.7 ± 0.26 | 11.7 ± 0.26 |
| Feminine | Medikem | 3 ± 0.5 | 1.5 ± 0.2 | 4.8 ± 0.34 | 9.6 ± 0.68 |
| Feminite Soja D3 | Enobiol | 4.2 ± 0.4 | 5.8 ± 0.7 | 10.0 ± 0.43 | 20.0 ± 0.86 |
| Gydrelle | Iprad Sante | 4.5 ± 0.7 | 13.3 ± 0.2 | 17.7 ± 0.67 | 35.0 ± 1.34 |
| Gydrelle phyto fort | Iprad Sante | 17.9 ± 1.4 | 9.4 ± 0.2 | 27.3 ± 0.52 | 27.3 ± 0.52 |
| Gynalpha fort | CCD | 28.6 ± 4.3 | 64.2 ± 9.6 | 92.8 ± 15.1 | 92.8 ± 15.2 |
| Gynalpha | CCD | 12.1 ± 1.8 | 15.0 ± 2.2 | 27.1 ± 0.82 | 54.2 ± 1.64 |
| Gynalpha plus | CCD | 12.0 ± 0.7 | 10.1 ± 0.8 | 22.1 ± 0.5 | 22.1 ± 0.5 |
| Gynosoya | Codifra | 27.0 ± 4.0 | 7.4 ± 1.1 | 34.4 ± 0.92 | 68.8 ± 1.84 |
| Inneov fermete | Inneov | 4.9 ± 0.7 | 3.9 ± 0.4 | 8.8 ± 0.43 | 17.6 ± 0.86 |
| IF super concentres | Solgar-SoyLife | 5.1 ± 0.3 | 18.5 ± 3.3 | 23.6 ± 0.77 | 23.6 ± 0.77 |
| Isoflavone de soja | Vitarmonyl | 10.7 ± 1.9 | 5.0 ± 0.6 | 15.7 ± 0.65 | 31.4 ± 1.30 |
| Isopro | Eko Bio | 4.4 ± 0.1 | 21.1 ± 1.7 | 25.5 ± 0.55 | 25.5 ± 0.55 |
| Isoyam | Starvital | 1.7 ± 0.2 | 1.5 ± 0.2 | 3.2 ± 0.26 | 9.6 ± 0.78 |
| Macasoyam | Fenioux | 2.2 ± 0.3 | 4.8 ± 0.7 | 7.0 ± 0.41 | 42.0 ± 2.46 |
| Menocomplexe | Biotechnie | 18.3 ± 0.2 | 9.3 ± 0.2 | 27.6 ± 0.26 | 55.2 ± 0.52 |
| Menoflore | Floessance | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.003 |
| Menolig | Vichy | 11.3 ± 1.7 | 5.6 ± 0.8 | 16.9 ± 0.65 | 67.6 ± 2.60 |
| Menopause | Juvamine | 7 ± 0.1 | 1.2 ± 0.13 | 9 ± 0.18 | 15.6 ± 0.72 |
| Oligoforme 50 | IDO | 0.4 ± 0.06 | 0.2 ± 0.03 | 0.6 ± 0.12 | 2.4 ± 0.48 |

(continued)

Tableau 8 (suite)

| Soy based supplements | Manufacturer | Genistein (mg per tablet) | Daidzein (mg per tablet) | Total isoflavones (mg per tablet) | Intake per day (mg) |
|-----------------------|---------------------|---------------------------|--------------------------|-----------------------------------|---------------------|
| Pausanorm | Alkimson | 0.04 ± 0.04 | 0.2 ± 0.02 | 6.2 ± 0.55 | 0.24 ± 0.04 |
| Preluzelle | LPF | 8.6 ± 1.3 | 10.7 ± 1.6 | 19.4 ± 0.70 | 38.8 ± 1.4 |
| Promensil | Novogen | 0.7 ± 0.02 | 0.3 ± 0.005 | 44.4 ± 2.16§ | 44.4 ± 0.06 |
| Phytofemme (iso) | Superdiet | 4.9 ± 0.7 | 4 ± 0.6 | 8.9 ± 0.47 | 17.8 ± 0.94 |
| Phytosoya | Arkopharma | 1.7 ± 0.2 | 7.1 ± 0.9 | 8.7 ± 1.0 | 17.4 ± 2.00 |
| Sojacal | Novagyn | 9.5 ± 1.4 | 6.3 ± 0.9 | 15.8 ± 0.62 | 31.6 ± 1.24 |
| Sojalia | Biocentury | 6.6 ± 0.5 | 3.7 ± 0.7 | 10.0 ± 0.45 | 20.0 ± 0.90 |
| Sojamag | Novagyn | 10.7 ± 1.6 | 6.1 ± 0.9 | 16.8 ± 0.65 | 33.6 ± 1.30 |
| Sojapause | Oligo pharma | 14.7 ± 0.4 | 7.2 ± 0.25 | 21.9 ± 0.33 | 43.8 ± 0.66 |
| Sojyam | Tonipharm | 5.9 ± 0.9 | 2.8 ± 0.4 | 8.7 ± 0.47 | 26.1 ± 1.41 |
| Soya femme 24 jour | Forte Pharma | 12.7 ± 0.5 | 9.8 ± 1.2 | 22.5 ± 0.53 | 22.5 ± 0.53 |
| Soya femme 24 nuit | Forte Pharma | 13.0 ± 0.5 | 9.9 ± 1.9 | 22.9 ± 0.63 | 22.9 ± 0.63 |
| Soya Menopause | Nutrisante | 20.9 ± 0.9 | 4.9 ± 0.5 | 14.1 ± 0.48 | 28.2 ± 0.96 |
| Soyolig | Vichy | 11.9 ± 1.8 | 6.7 ± 1 | 18.6 ± 0.68 | 37.2 ± 1.36 |
| Thalassovital | Dietetique et Sante | 2.1 ± 0.1 | 7.4 ± 0.5 | 9.5 ± 0.32 | 9.5 ± 0.32 |
| Ymea | Chefaro-Ardeval | 0.7 ± 0.02 | 2.5 ± 0.04 | 3.2 ± 0.10 | 6.4 ± 0.20 |
| Ysoflavone complexe | Ysonut | 5.0 ± 0.5 | 12.9 ± 0.5 | 17.9 ± 0.58 | 36.8 ± 1.16 |

6. Effets positifs sur l'organisme

Les effets positifs sur l'organisme humain sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 9 : Les phyto-estrogènes et leurs effets positifs pour notre santé (31).

| Effets | Actions | Mécanismes et références |
|-----------------------|---|--|
| Anti-oxydation | <p>Fonctionneraient comme un anti-oxydant : combat le stress oxydatif</p> <p>Mais les isoflavones sont moins anti-oxydantes que les flavones (délocalisation)</p> | <p>La génistéine :</p> <ul style="list-style-type: none"> - neutralise les radicaux libres - augmente la quantité de la superoxyde dismutase, la catalase, du glutathion et atténue la diminution de ces antioxydants - inhibe les tyrosine kinases et les topoisomérases I et II <p>Effets observés à doses pharmacologiques <i>in vitro</i>, non atteignables par l'alimentation.</p> |

| | | |
|---|--|--|
| | électronique incomplète sur le squelette des isoflavones) et les effets <i>in vitro</i> sont observés à des concentrations extraphysiologiques | |
| Prévention de l'ostéoporose | Préviendraient d'une augmentation de la résorption osseuse et maintiendraient la densité minérale osseuse | La génistéine : <ul style="list-style-type: none"> - via les REs stimule la prolifération et différenciation des ostéoblastes via les voies p38MAPK-Runx2 et NO/cGMP - inhibe la formation d'ostéoclastes et la résorption osseuse en activant l'osteoclastogenic inhibiteur osteoprotegerin (OPG) et en bloquant la voie NF-kB - est utilisée via les compléments alimentaires, en tant que alternative pour prévenir l'ostéoporose |
| Modification épigénétique | Inhiberaient et moduleraient les changements épigénétiques | La génistéine méthyletrait l'ADN à faible dose (dose potentiellement atteinte par l'alimentation), pouvant prévenir l'expression et la production de protéines pro-oncogènes (29,32) : hypothèse pouvant expliquer la faible incidence de certains cancers dans la population asiatique qui en consomme en plus grande quantité que les caucasiens et depuis le plus jeune âge. |
| Prévention et inhibition de cancer En phase initiale | Réduiraient l'incidence et la morbidité du cancer | Relation entre prise de soja et produits dérivés et diminution de l'apparition et/ou mortalité du cancer du sein. (33) Possible diminution du risque de cancer de la prostate par la génistéine et daidzéine. (34,35) La prévention du processus de cancérogenèse via une activité anti-oxydative et de réparation de l'ADN paraît peu probable <i>in vivo</i> chez l'humain car ces effets sont observés <i>in vitro</i> ou <i>in vivo</i> sur des modèles animaux à des concentrations bien plus élevées que les concentrations physiologiques et alimentaires. (31) Autre hypothèse (29) : les effets bénéfiques des |

| | | |
|--|---|--|
| | | isoflavones sur l'incidence du cancer du sein résulteraient d'effets épigénétiques survenant tôt dans la vie, donc s'il y a une consommation précoce d'isoflavones dans l'alimentation : rejoint l'hypothèse d'une incidence plus faible de cancer chez les asiatiques car ils consomment du soja tôt dans la vie. |
| Modulation métabolique | Régulation du métabolisme lipidique pour réduire le risque d'obésité et soulager les inconforts de la ménopause | Les Isoflavones aglycones réduiraient les symptômes vasomoteurs avec un minimum d'effets indésirables. S-Eq a montré un excellent profil de sécurité et pharmacocinétique chez l'homme et la femme, administré à une dose max de 320mg/jour. |
| Amélioration des fonctions cognitives | Amélioreraient les fonctions cognitives et les symptômes de maladies neurodégénératives | La génistéine : <ul style="list-style-type: none"> - préviendrait l'altération de la mémoire spatiale à court terme induite par l'amyloïde β chez le rat via une voie estrogénique et diminue le stress oxydatif - peut diminuer le niveau de l'amyloïde β dans le cerveau, réduire le nombre et la superficie des plaques amyloïdes (confirmé <i>in vivo</i> par TEP) et diminuer la réactivité microgliale. <p>Mais la transposition de ces effets n'a pas été prouvée chez l'Homme.</p> |

7. Avant-propos des articles de revues étudiant les phyto-estrogènes

Le mécanisme d'action des isoflavones est principalement étudié *in vitro* et *in vivo* sur des modèles animaux.

Certains faits sont à prendre en compte lors de l'analyse de ce type d'étude :

- Les études *in vitro* sont difficilement transposables aux êtres vivants car l'étude isolée de cellules ne tient pas compte de la synergie cellulaire dans un organisme, de la complexité des liens inter-cellulaires et inter-tissulaires et des potentiels mécanismes immunitaires. Il faut donc systématiquement vérifier des résultats *in vitro* par des études *in vivo*.
- La biodisponibilité des isoflavones chez les rongeurs est 10 fois moins importante que chez les êtres humains. Pour que les résultats d'une étude sur un modèle animal puissent être transposables à l'Homme, il faut atteindre une concentration plasmatique humaine, c'est-à-dire administrer aux animaux une dose d'isoflavones 10 fois plus

importante que celle consommée par les humains. Ceci conduit à administrer au rongeur une dose d'environ 20mg/kg/jour pour atteindre une concentration plasmatique de 610 ng/mL. Alors que chez l'humain, une concentration plasmatique de 599 ng/mL est obtenue après une administration de 1,4mg/kg/jour (soit environ 100 mg/jour).

- Les rats produisent beaucoup plus de S-Eq que les humains. Ceci est à prendre en compte car le S-Eq est très affiné pour les REs (principalement pour les RE β) et a donc un impact important sur les effets biologiques que nous pourrions observer lors des études.
- Les souris nues athymiques produisent surtout des sulfates alors que les rats et les humains produisent surtout des glucuronides, d'où le fait que les rats sont privilégiés par rapport aux souris pour réaliser les études.
- Lors de la consommation de soja, divers isoflavones à activité estrogénique sont ingérés : la génistéine, la daidzéine étant les principaux, puis S-Eq et glycitéine (pur agoniste de RE β). Si elle est présente en quantité importante elle peut antagoniser les effets via RE α). Une étude sur un composé isolé ne peut donc pas être transposée à la consommation de soja chez l'humain.

La sélection et l'analyse des articles exploités dans la présente étude ont été basées sur ces postulats.

III. Impacts sur le développement des appareils reproducteurs et la reprotoxicité

1. Rappel : biosynthèse physiologique des hormones sexuelles (36,37)

La biosynthèse des hormones sexuelles s'effectue selon le schéma général présenté ci-après, à partir du cholestérol apporté aux cellules via les lipoprotéines de basse densité (LDL), dont le rôle est le transport du cholestérol alimentaire dans le sang.

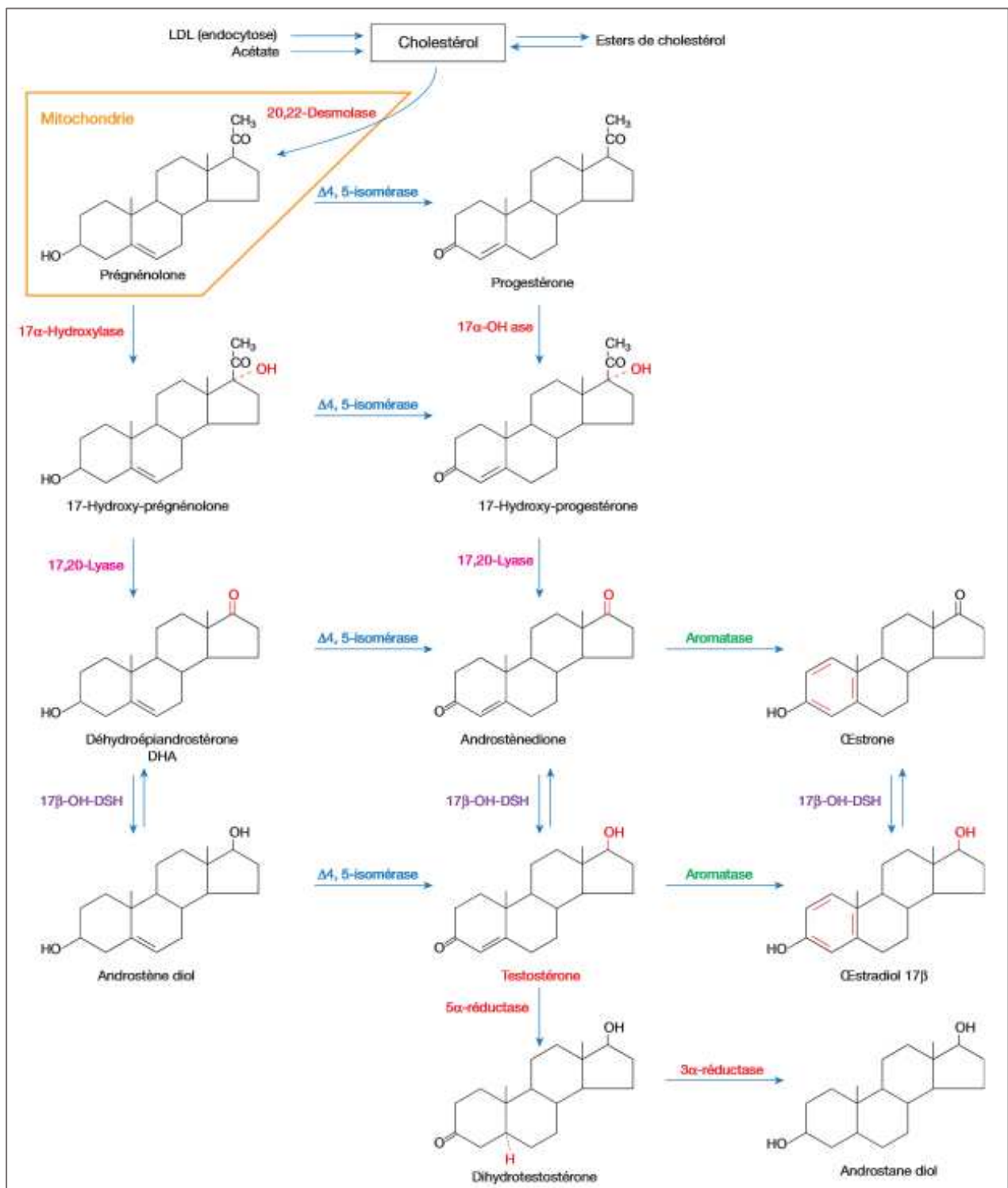


Figure 9 : Biosynthèse des hormones sexuelles (36).

17 β -OH-DSH : 17 β -hydroxy-stéroïde déshydrogénase ; 17 α -OHase : 17 α -hydroxylase.

Les hormones stéroïdiennes comportent trois groupes :

- Les estrogènes : estradiol (chef de file), estrone, estriol ;
- Les androgènes : testostérone, dihydrotestostérone, androstènedione ;
- La progestérone, intermédiaire dans la synthèse de tous les stéroïdes.

Les androgènes sont les précurseurs obligatoires des estrogènes. La transformation des androgènes en estrogènes est catalysée par l'aromatase, enzyme stimulée par l'Hormone Lutéinisante (LH). Par cette réaction enzymatique, la testostérone est transformée en estradiol et l'androstènedione en estrone.

La biosynthèse des hormones sexuelles se réalise au niveau de différents organes :

- Les gonades (ovaires pour la femme, testicules pour l'homme) ;
- Les glandes surrénales et plus particulièrement la zone corticosurrénalienne. Les estrogènes sont normalement sécrétés à l'état de trace, mais ils représentent une partie importante des estrogènes, à côté des estrogènes du tissu adipeux, après la ménopause ;
- Par les tissus cibles ayant le bagage enzymatique (tissus adipeux, cerveau, rein...).

- **Régulation de la synthèse hormonale**

Les cellules gonadotropes, représentant 10-15% des cellules de l'adénohypophyse, synthétisent et sécrètent deux gonadostimulines :

- L'Hormone FolliculoStimulante, FSH ;
- L'Hormone Lutéinisante, LH.

Cette fonction gonadotrope hypophysaire est sous le contrôle de la gonadolibérine hypothalamique (GnRH), sécrétée de manière pulsatile par des neurones hypothalamiques dont le corps cellulaire se trouve dans l'aire préoptique (APO).

La FSH :

- Agit sur les cellules de Sertoli pour favoriser la spermatogénèse ;
- Stimule le développement initial des follicules ;
- Induit l'expression de récepteurs à la LH sur les cellules de la granulosa ;
- Active l'aromatase, amplifiant la stéroïdogénèse lors de la deuxième partie de la phase folliculaire lors de l'ovogénèse ;
- Induit une synthèse accrue de prostaglandines (PG), principalement la PGE2 impliquée dans la rupture du follicule lors de l'ovulation.

La LH :

- Stimule la sécrétion de testostérone par les cellules de Leydig ;
- Stimule le développement des cellules de la thèque interne et de la granulosa, permettant au follicule dominant d'atteindre le stade pré-ovulatoire ;
- Augmente la production d'androgènes par les cellules de la thèque interne en augmentant la captation du cholestérol par les cellules, entraînant *in fine* l'augmentation de la production d'estrogènes par les cellules de la granulosa ;
- Déclenche l'ovulation (lors du pic de LH) ;
- Stimule la sécrétion de progestérone et d'estradiol pendant toute la phase lutéale.

Les hormones sexuelles exercent un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire via l'œstradiol, après aromatisation de la dihydrotestostérone chez l'homme. Ainsi, l'œstradiol inhibe la sécrétion de GnRH et par conséquent la sécrétion de FSH et LH. Une concentration élevée de progestérone inhibe aussi la libération de GnRH. La contraception hormonale se base sur ce rétrocontrôle négatif exercé par ces hormones.

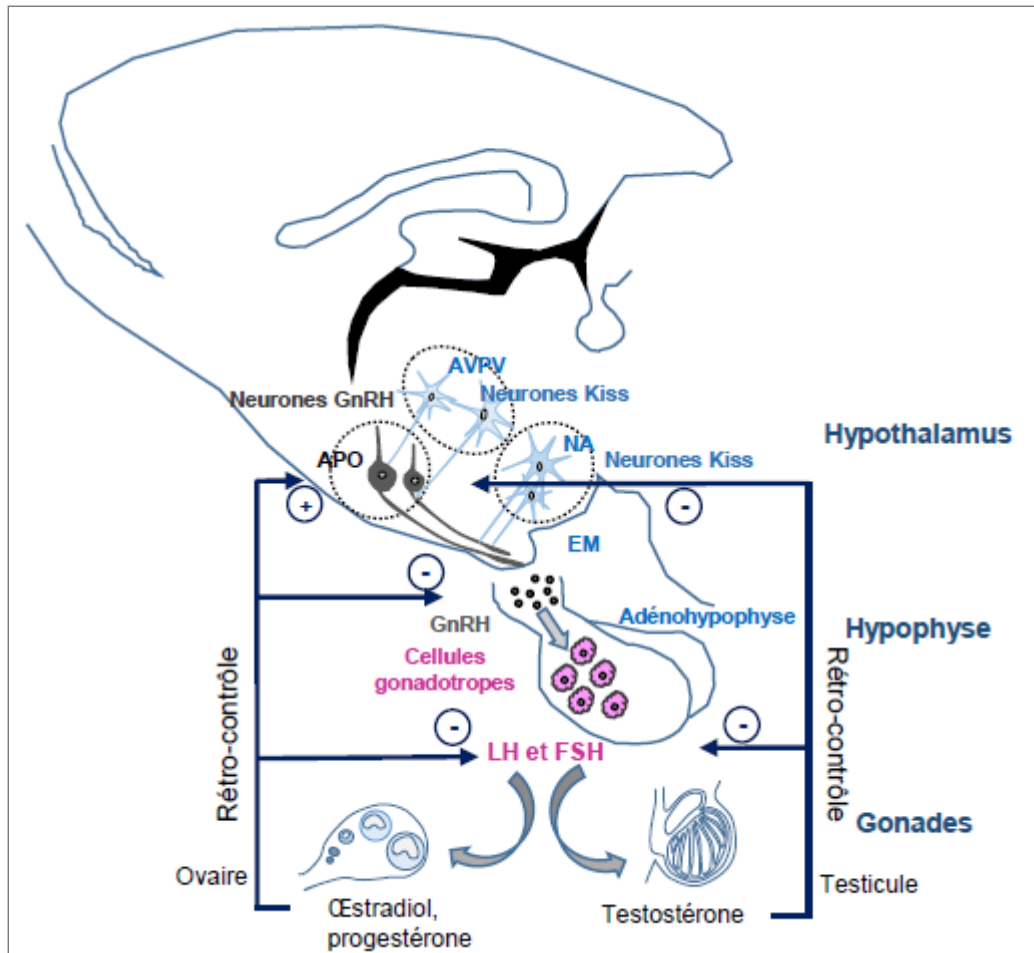


Figure 10 : Axe hypothalamo-hypophysaire et gonadique et rétrocontrôle négatif exercé par les hormones stéroïdiennes (38).

Le développement embryonnaire des appareils reproducteurs est rappelé en **Annexe 1**, l'anatomie de l'appareil reproducteur masculin est présentée en **Annexe 2**, la spermatogénèse est décrite en **Annexe 3**, et la biosynthèse masculine des hormones sexuelles est rappelée en **Annexe 4**.

L'anatomie de l'appareil reproducteur féminin est rappelée en **Annexe 5**, l'ovogénèse est décrite en **Annexe 6**, la biosynthèse des hormones sexuelles chez la femme est mentionnée à l'**Annexe 7** et le cycle menstruel en **Annexe 8**. Le déroulement de la puberté chez le garçon et la fille est mentionné en **Annexe 9**.

2. Impact chez l'homme

a) Développement de l'enfant

Peu après la naissance, la testostérone connaît une forte augmentation aux alentours du 4^{ème} mois. Ce pic d'hormone joue un rôle dans la multiplication des diverses populations cellulaires testiculaires et participe à la masculinisation du comportement (39,40), comme rappelé dans l'Annexe 3.

Cette masculinisation subséquente du comportement pourrait, comme chez les rongeurs et les primates non humains, être liée à la virilisation de l'aire sexuellement dimorphique de l'aire préoptique (ASD-APO) au niveau de l'hypothalamus (41).

Cette masculinisation est obtenue par l'aromatation de la testostérone en estradiol au niveau local et conduit à une augmentation de la taille de cette aire particulière. Cette masculinisation, qui se traduira à l'âge adulte sur le plan comportemental, est donc due à l'estradiol comme messenger secondaire.

Une exposition massive à des estrogènes peut donc conduire dans ce cas à une diminution de la production de LH par rétrocontrôle négatif, se traduisant par une réduction du développement puis du fonctionnement testiculaire à l'âge adulte due à une diminution de production de testostérone (42). En revanche, l'apport d'un xéno-estrogène, comme les phyto-estrogènes, pourra assurer la masculinisation de l'ASD-APO. A l'opposé, l'exposition néonatale d'un mâle à un xénobiotique bloquant l'aromatase (effet anti-estrogénique) pourrait conduire à un défaut de virilisation de l'ASD-APO (43).

Une étude épidémiologique a été réalisée sur ce sujet entre 1991 et 1994 (44). L'objectif était d'examiner le comportement des enfants lors de jeux de rôle et de constater s'il y avait une association avec les divers choix d'alimentation pour les nourrissons.

Pour cela, les auteurs ont suivi 3 664 garçons et 3 412 filles intégrés dans l'étude *Avon Longitudinal Study of Parents and Children* en Grande-Bretagne. Quatre groupes ont été formés selon la méthode d'alimentation exclusive choisie par les parents :

- Allaitement ;
- Formule infantile sans soja ;
- Formule infantile à base de soja introduite tôt dans la vie du nourrisson (avant le 4^{ème} mois) ;
- Formule infantile à base de soja introduite tardivement (entre le 4^{ème} mois et le 15^{ème} mois).

Les filles et les garçons ont été observés séparément pour distinguer les différences selon le sexe à 42 mois. Le comportement en matière de jeux de rôles a été évalué à l'aide du *Pre-School Activities Inventory* (PSAI), un test psychométrique conçu pour évaluer les différences intra- et intersexes lors des jeux de la petite enfance afin d'évaluer le comportement des jeux de rôle selon le sexe.

A 42 mois, le score PSAI chez les filles est significativement supérieur dans le groupe alimenté par des formules infantiles à base de soja tôt dans la vie, par rapport au groupe alimenté par d'autres formules infantiles (sans soja). C'est-à-dire que les filles nourries à base de soja ont un score signifiant qu'elles sont moins « féminines » au niveau du comportement lors des jeux. Mais ce résultat n'a pas été associé de manière significative aux résultats PSAI obtenus chez les garçons (PSAI de 63,0 pour les garçons et de 40,8 pour les filles). De plus, cette association entre l'exposition au soja et le score PSAI chez les filles exposées s'est sensiblement atténuée à 30 et 57 mois.

Bien qu'elle ne soit pas constante tout au long de l'enfance, l'exposition précoce aux isoflavones de soja a été associée, par les auteurs de cette étude, à un comportement lors des jeux moins féminin que la normale à 42 mois chez les filles exposées.

Même si cette étude ne démontre pas une association entre l'exposition précoce au soja et le développement comportemental des enfants, elle suggère tout de même que les formules alimentaires infantiles à base de soja ne sont pas inoffensives vis-à-vis du développement de l'enfant.

b) Exposition de rats mâles adultes : études sur la fertilité

Les différences régionales dans l'expression de certains récepteurs sont bien documentées dans le testicule et l'épididyme du rat (45,46) :

- Les $RE\alpha$ et $RE\beta$ sont exprimés dans les noyaux des cellules de Sertoli, de Leydig, des spermatogonies, des spermatocytes et des spermatoïdes ;
- Le GPER est exprimé dans le cytoplasme des cellules de Leydig, de Sertoli et des spermatogonies.

Cela reflète l'environnement changeant et complexe, créé par l'épithélium épидидymaire, que les spermatozoïdes subissent dans l'épididyme afin de mûrir et d'acquérir leur capacité de fertilisation.

Comme rappelé en Annexe 2, les spermatozoïdes sont produits dans les tubes séminifères présents dans les lobules testiculaires à partir des spermatogonies (cellules germinales masculines). Ils sont ensuite transportés dans l'épididyme où ils subissent divers phénomènes, tels que la décapacitation, correspondant à la maturation épидидymaire, pour le rendre fécondant.

Les spermatozoïdes, ayant un faible métabolisme, peuvent survivre dans le liquide épидидymaire près de 3 semaines. De plus, l'épididyme protège les spermatozoïdes des dommages oxydatifs en sécrétant des enzymes antioxydantes, sous la régulation des stéroïdes.

Ainsi, les estrogènes jouent un rôle dans la spermatogenèse, la réabsorption des fluides au niveau du rete testis, et la migration des spermatozoïdes dans le fluide testiculaire (46).

Une étude a donc été menée pour évaluer si l'exposition aux phyto-estrogènes via l'alimentation pouvait réduire la fertilité en augmentant le stress oxydatif (47).

Cette étude a été réalisée sur des rats mâles adultes, progénitures de rats femelles et mâles non exposés aux phyto-estrogènes au cours de leur vie, pour éviter un possible biais via des effets lors de la gestation et la lactation. Ainsi, il est possible d'apprécier les possibles effets des phyto-estrogènes lors d'une exposition exclusivement à l'âge adulte.

L'étude a duré 25 jours. Les rats ont été exposés à :

- 3mg/kg/jour pour les contrôles ;
- 14mg/kg/jour pour le groupe de rats exposés (dose pouvant être inférieure à celle résultant d'une exposition humaine au soja via des compléments alimentaires ou l'alimentation).

Les rats exposés ont présenté une diminution de l'expression des RE α au niveau de la queue de l'épididyme et une augmentation de leur expression au niveau de la tête de l'épididyme, sans modification de l'expression des RE β . Cela suggère qu'il y a une différence de régulation de l'expression des récepteurs au niveau de l'épididyme.

Les spermatozoïdes des rats exposés subissent, au niveau de la queue de l'épididyme, une augmentation de la peroxydation lipidique après seulement 3 jours d'exposition. Cela coïncide avec les modifications d'expression des REs dans l'épididyme. Cette peroxydation lipidique réduit la mobilité des spermatozoïdes et leur capacité à fusionner avec un ovocyte en impactant les modifications lipidiques opérées lors de la décapacitation.

Cette étude conclue qu'une exposition aiguë de rats mâles adultes à une dose de 14mg/kg/jour de phyto-estrogènes peut réduire temporairement la fertilité en altérant la qualité du sperme.

Cette altération de la qualité du sperme serait ainsi due à une réduction de la protection antioxydante régulée par les stéroïdes dans l'épididyme, conduisant à des dommages oxydatifs et donc à la diminution des fonctions des spermatozoïdes.

Cet effet coïncide avec une altération de l'expression des RE α épididymaires (et des récepteurs aux androgènes, dont l'expression allait dans le même sens que celui des RE α), indiquant une fonction épididymaire perturbée.

Malgré une dose expérimentale plus faible que celle recommandée pour pouvoir extrapoler les effets à l'homme, nous observons des effets aigus sur la fertilité du rat, nous laissant penser que des effets potentiellement similaires pourraient être observés chez l'homme, surtout à des doses bien plus élevées et facilement atteintes par l'alimentation moderne.

Une autre étude dans laquelle des rats mâles adultes sont également nourris avec une dose de 14mg/kg/jour pendant 24 jours, observe une augmentation de l'apoptose des spermatocytes et spermatides dans les tubes séminifères, indépendamment du stade de la spermatogénèse, aboutissant à une diminution du nombre de spermatozoïdes dans le sperme (48).

L'hypothèse est que cette apoptose serait due à une action indirecte des phyto-estrogènes, en diminuant la résorption des fluides dans les canaux efférents, avec une augmentation du volume lumineux des tubes séminifères.

Cette induction de l'apoptose suggère que les phyto-estrogènes joueraient un rôle anti-estrogénique au niveau des spermatocytes et des spermatogonies car un effet anti-apoptotique de la 17 β E est observé dans des études *in vitro*, telle que dans l'étude (49), à de faibles doses (entre 10⁻⁹-10⁻¹⁰ mol/L).

De plus, chez des souris n'ayant plus l'aromatase, présentant donc une concentration en estradiol épидидymaire diminuée, il a été observé une diminution significative du nombre de spermatides à la suite d'un arrêt de la méiose II lors de la spermatogénèse (50). Mais le nombre de spermatogonies reste inchangé, il n'est seulement observé qu'une diminution du nombre de spermatides et donc de spermatozoïdes à la fin de la spermatogénèse, comme dans l'étude (48). Cela aboutit à une diminution de la qualité du sperme par une diminution du nombre de spermatozoïdes viables.

Ces deux études (47,48) concordent sur le fait que ces effets observés sur la qualité du sperme sont indépendants de l'axe hypothalamo-hypophysaire. En effet, dans ces deux études les concentrations de LH, FSH et de testostérone testiculaire sont inchangées.

Nous ne pouvons conclure à une infertilité car les spermatogonies ne sont pas impactées, la production de spermatozoïdes peut théoriquement toujours avoir lieu. Néanmoins, la diminution de qualité du sperme peut, au moins à court terme, impacter la fertilité en diminuant les probabilités de fécondation.

Par ailleurs, les androgènes, participant aussi à la différenciation et à la multiplication des cellules de la lignée germinale, agissent notamment via leur liaison à l'*Androgen Binding Protein* (ABP) (Annexe 3). Cette protéine se lie à une partie des androgènes dans le testicule, constituant ainsi un pool de réserve libéré selon la concentration libre d'androgène. De plus, l'ABP permet de réguler l'action paracrine de la testostérone en la transférant au niveau des cellules germinales mâles pour leur maturation et est impliquée dans l'activation de l'aromatase et donc indirectement dans la production d'estradiol.

L'ABP est synthétisé par les cellules de Sertoli sous l'induction de la FSH et de la testostérone (51,52).

Aleem et al (53) ont voulu étudier la relation entre l'estradiol et les protéines testiculaires telles que l'ABP et l'impact sur la fertilité des rats mâles. Pour ce faire, ils leur ont administré en injection sous-cutanée 0,1mg/kg/jour d'estradiol pendant 10 jours.

Ils ont ensuite observé :

- Une diminution des concentrations sériques de LH, FSH et de testostérone totale, probablement par rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire, sans arrêt de la spermatogénèse.

- Une hypercompactation de la chromatine des spermatozoïdes durant la spermiogénèse, réduisant leur potentiel fécondant.
En effet, la condensation de la chromatine est un des facteurs importants régissant le potentiel fécondant des spermatozoïdes. Cette observation serait probablement due à la diminution de l'expression de protéines, telles que les protéines de transition 1 et 2 (TP 1 et 2), nécessaires à la protection de la chromatine contre les dommages exogènes en la rendant transcriptionnellement inactive.
Cette observation suggère que l'estradiol aurait un effet négatif sur la stabilité post-transcriptionnelle de ces protéines et donc sur la viabilité des spermatozoïdes produits.
- Une augmentation des Acides Ribonucléiques messagers (ARNm) de l'ABP et donc potentiellement une augmentation de la production d'ABP par les cellules de Sertoli. Cette augmentation de l'ABP pourrait aussi expliquer la diminution de la concentration de testostérone totale par diminution de la concentration de testostérone libre, étant alors majoritairement liée à l'ABP. La concentration active de testostérone étant plus faible, cela peut aussi impacter la spermatogénèse et donc la probabilité de fertilité des rats.

Nous observons donc que l'estradiol impacte de manière directe ou indirecte la différenciation des cellules germinales et ainsi la production de spermatozoïdes.

Par extension, nous pouvons imaginer que les phyto-estrogènes ayant une activité estrogénique aient des impacts similaires à l'estradiol et peuvent potentiellement diminuer temporairement la fertilité des rats.

c) Etudes épidémiologiques sur la qualité spermatique

La qualité spermatique est étroitement liée à la fertilité masculine.

Après des études sur les animaux suggérant un impact des phyto-estrogènes sur la qualité du sperme, il est important d'apprécier l'impact chez l'être humain pour mieux le comprendre, afin de prévenir les effets sur la fertilité masculine. Pour ce faire, diverses études épidémiologiques ont été réalisées.

Un certain nombre d'entre elles ont utilisé les mesures des concentrations urinaires des phyto-estrogènes pour évaluer si elles pouvaient être associées à des problèmes de fertilité chez l'homme.

- Toshima et al (54) ont réalisé ces mesures chez 42 hommes japonais consultant pour un risque de stérilité.

Dans les substances dosées se trouvent la daidzéine et son métabolite, le S-Eq, contenus dans le soja, très présent dans l'alimentation japonaise. Ces mesures ont été mises en relation avec une évaluation de la qualité du sperme, dont les paramètres étudiés sont le volume du sperme, la concentration et la motilité des spermatozoïdes.

Il ressort diverses informations :

- La daidzéine a été détectée dans les urines de tous les sujets, et le S-Eq seulement dans les urines de 21 sujets ;
- Une corrélation négative a été mise en évidence entre la présence de daidzéine dans les urines et la concentration en spermatozoïdes ;
- En comparant les paramètres étudiés des hommes chez qui le S-Eq a été détecté et les autres, il a été observé une diminution significative de la motilité des spermatozoïdes dans le groupe présentant du S-Eq urinaire.

Ces présents résultats sont en faveur d'un impact négatif de la daidzéine et du S-Eq sur la qualité du sperme, qui peuvent potentiellement diminuer la fertilité chez l'homme.

Notons cependant que cette étude porte sur un petit échantillon et s'intéresse aussi à d'autres facteurs pouvant être des perturbateurs endocriniens tels que les pyréthriinoïdes (insecticide largement utilisé faisant partie des expositions environnementales) et d'autres facteurs alimentaires tels que la prise de café, pouvant engendrer des biais d'interprétation et des effets croisés.

De plus, les auteurs signalent le fait qu'ils n'ont pu suivre strictement les directives de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) concernant l'échantillonnage, le transport et l'analyse du sperme, limitant les résultats de cette étude.

Néanmoins, ces résultats suggèrent la nécessité d'inclure et d'étudier dans le futur la consommation d'isoflavones de soja comme perturbateurs endocriniens pouvant altérer la fertilité des hommes via la qualité du sperme.

- Une autre étude a été réalisée avec le même objectif : évaluer l'association entre les concentrations urinaires de phyto-estrogènes et la qualité du sperme (55).

Il s'agit d'une étude de cohorte prospective portant sur 501 partenaires masculins désirant un enfant et cessant de recourir à la contraception dans le couple, inclus dans l'étude *Longitudinal Investigation of Fertility and the Environment* (LIFE) aux Etats-Unis.

Les paramètres spermatiques pris en compte sont :

- les caractéristiques générales du sperme (volume, concentration en spermatozoïdes, nombre de spermatozoïdes...) ;
- la mesure de la motilité des spermatozoïdes ;
- les mesures de la morphométrie et de la morphologie des spermatozoïdes ;
- un test de stabilité de la chromatine des spermatozoïdes.

La génistéine et la daidzéine détectées dans les urines ont été significativement associées à un pourcentage plus faible de spermatozoïdes normaux et à une augmentation des anomalies morphologiques des spermatozoïdes. Ces associations observées diminuent lorsque l'Indice de Masse Corporelle (IMC) augmente.

- Les concentrations urinaires de plusieurs phyto-estrogènes, dont la daidzéine, le S-Eq et la génistéine, ont été dosées dans l'urine d'hommes chinois : 608 infertiles idiopathiques et 469 fertiles (56).

Ces concentrations ont été mises en relation avec la qualité du sperme de ces hommes, définie par les critères suivants : concentration en spermatozoïdes, nombre de spermatozoïdes par éjaculation et leur motilité.

Les auteurs ont conclu de leurs résultats une association significative entre la forte concentration urinaire de daidzéine et de génistéine avec l'infertilité idiopathique. Cette association était d'autant plus forte chez les hommes infertiles présentant au moins un paramètre de la qualité du sperme anormal, par rapport aux hommes infertiles avec des paramètres normaux. Les hommes infertiles chez qui cette association était d'autant plus forte présentaient un nombre de spermatozoïdes diminué dans l'éjaculat.

Ces résultats apportent un fait supplémentaire en faveur d'un effet négatif des phyto-estrogènes sur la fertilité masculine et pourraient soulever un problème de santé publique en Chine car l'exposition aux phyto-estrogènes via l'alimentation est omniprésente.

D'autres études ont été réalisées en dosant les phyto-estrogènes dans le sperme des hommes.

- L'étude de Chavarro et al (57) soutient l'hypothèse qu'une concentration plus faible en spermatozoïdes dans le sperme serait associée à une consommation importante d'isoflavones de soja.

Pour en arriver à cette conclusion, ils ont proposé à 99 partenaires masculins de couples subfertiles, consultant pour des analyses de sperme au centre de fertilité du Massachusetts, de consommer des aliments à base de soja (faisant partie d'une liste prédéfinie de 15 produits alimentaires) pendant 3 mois, puis d'évaluer la qualité de leur sperme.

Une corrélation négative entre la consommation d'aliments à base de soja et la concentration en spermatozoïdes a été mise en évidence et est toujours significative après avoir pris en compte l'âge, le temps d'abstinence, l'IMC, la consommation d'alcool, de café et le tabagisme.

Tableau 10 : Quantités d'isoflavones moyennes journalières consommées et les concentrations spermatiques en spermatozoïdes par rapport aux sujets contrôles (57).

| Isoflavones | Fréquence des aliments totaux consommés | Quantité moyenne consommée en mg/jour | Concentration en spermatozoïdes en millions/mL |
|-------------------|---|---------------------------------------|--|
| Daidzéine | < 2 x/mois | 0,34 | - 21 |
| | 2x/mois à 2x/semaine | 1,22 | - 16 |
| | > 2x/semaine | 5,15 | - 32 |
| Génistéine | < 2 x/mois | 0,46 | - 24 |
| | 2x/mois à 2x/semaine | 1,80 | - 14 |
| | > 2x/semaine | 7,48 | - 32 |
| Glycitéine | < 2 x/mois | 0,05 | - 20 |
| | 2x/mois à 2x/semaine | 0,23 | - 13 |
| | > 2x/semaine | 0,91 | - 35 |

Tableau 11 : Exemple de portions alimentaires équivalentes à la quantité moyenne d'isoflavones consommées lors de cette étude.

| Fréquence de consommation des aliments à base de soja | Exemples de portions alimentaires journalières* par rapport à l'apport en génistéine** (présenté dans le Tableau 10) |
|---|--|
| < 2x/mois | Une soupe miso |
| 2x/mois à 2x/semaine | Quelques pousses de soja dans une salade, ou un verre de lait de soja |
| > 2x/semaine | Une portion de tofu, ou un yaourt au soja |

* En se basant sur les données du tableau 7.

** La génistéine est prise comme référence car il s'agit de l'isoflavone en plus grande quantité dans le soja.

Le tableau 11 illustre le fait qu'une concentration d'isoflavones entraînant des effets sur la qualité du sperme des hommes peut être facilement atteinte par l'alimentation.

Si une exposition à courte terme aux isoflavones, comme dans l'étude de Chavarro et al, aboutit à une diminution significative des spermatozoïdes, alors une exposition à long terme, voire chronique selon les habitudes alimentaires, pourrait impacter sérieusement la fertilité masculine par une diminution de la qualité du sperme.

Malgré le manque de preuves puissantes, ces effets sont non négligeables et doivent être pris en compte dans les recommandations alimentaires, principalement dans les pays tels que la Chine où le soja est omniprésent dans les assiettes.

- Une autre étude portant sur des hommes chinois en âge de procréer examine l'association entre la présence de phyto-estrogènes dans le sperme et la qualité du sperme (58).

Les critères de qualité de sperme sélectionnés sont : la concentration en spermatozoïdes, le nombre, la motilité, les paramètres de mouvement des spermatozoïdes, et le volume du sperme.

Une association négative a été mise en évidence entre la présence de génistéine dans le sperme et une diminution du nombre de spermatozoïdes, de la concentration en spermatozoïdes dans le sperme, sans modification de son volume.

Ces deux dernières études concordent avec les précédentes dosant les phyto-estrogènes dans les urines : une détection d'isoflavones dans les urines ou le sperme des hommes est associée à une baisse de la qualité du sperme et par conséquent à une probable baisse de la fertilité, et ce à des doses d'isoflavones atteignables par l'alimentation.

Tous ces résultats mettent en lumière la nécessité d'étudier les phyto-estrogènes et leurs impacts sur la fertilité masculine, car ils y sont exposés fréquemment selon les habitudes alimentaires, surtout dans les pays asiatiques. Les études épidémiologiques nécessiteraient plus de participants et plus de diversité en termes d'exposition (divers régimes alimentaires, diverses populations se distinguant par leurs cultures et habitudes alimentaires).

Ces études devraient aussi être complétées par des expériences fondamentales pour confirmer si cette relation est causale et pour avoir plus de réponses sur les mécanismes sous-jacents des phyto-estrogènes, nous permettant de les prévenir à l'avenir si ces associations négatives se confirment.

3. Impact chez la femme

a) Développement du nouveau-né

Des auteurs ont réalisé une étude épidémiologique en suivant des nourrissons américains pendant 28 semaines pour les garçons, et 36 semaines pour les filles, afin de caractériser le développement post-natal des tissus sensibles aux estrogènes. L'hypothèse émise est qu'une exposition néonatale aux isoflavones de soja prolongerait le développement physiologique des tissus dépendants des estrogènes (59).

Les nourrissons sont divisés en trois groupes selon leur alimentation néo-natale exclusive : lait infantile à base de soja, lait infantile à base de lait de vache, ou l'allaitement.

Lors de ce suivi, des mesures répétées de l'index de maturation (IM) des cellules épithéliales vaginales et urétrales, du volume utérin et du diamètre des bourgeons mammaires, ainsi que les concentrations sériques d'estradiol et de FSH ont été réalisées.

Les résultats observés sont :

- Chez toutes les filles, l'IM des cellules épithéliales vaginales diminue initialement en post-natal. Puis avec l'âge, l'IM augmente significativement chez les filles nourries à base de lait de soja par rapport aux autres méthodes d'alimentation, indiquant une stimulation de la prolifération cellulaire.
- Il n'est pas observé de différence au niveau du diamètre des bourgeons mammaires entre les trois différents groupes de filles.
- La concentration sérique en estradiol est significativement inférieure chez les filles nourries au lait de soja par rapport aux filles allaitées, probablement due à un rétrocontrôle négatif exercé sur la production d'estrogènes endogènes.
- Chez les garçons, un pic transitoire à 4 semaines de vies est observé au niveau du développement des bourgeons mammaires. Puis une diminution importante du diamètre des bourgeons mammaires est observée seulement chez les garçons allaités, car chez les garçons exposés au soja, la stimulation par les phyto-estrogènes est constante.

Le post-partum est une période importante chez le nourrisson car il s'agit du sevrage des estrogènes maternels, jusqu'à ce qu'ils en produisent eux-mêmes. Or, lors d'une exposition alimentaire au soja pendant cette période, les nourrissons sont constamment exposés aux phyto-estrogènes exerçant une activité estrogénique, risquant donc une perturbation endocrinienne lors du développement néo-natal, avec principalement dans cette étude une stimulation de la prolifération cellulaire au niveau des tissus cibles.

Pour avoir une idée des répercussions sur le long terme, il faudrait recontacter les enfants inclus dans l'étude plusieurs années après et observer les effets tissulaires et cliniques d'une prolifération cellulaire précoce chez les filles exposées au soja par rapport aux autres.

b) Puberté

La puberté est la période de transition entre l'enfance et l'âge adulte. Elle débute à la suite du réveil de l'axe gonadotrope. En effet, des neurones hypothalamiques débutent la sécrétion de GnRH, stimulant la production de FSH et LH. Les gonades sont alors activées par les gonadostimulines, débutant la production d'estradiol chez la fille qui peut atteindre 75 pg/mL (37).

Le premier signe de la puberté chez les filles est l'augmentation du volume des seins, avec l'apparition du bourgeon mammaire appelée thélarche, stimulée par les estrogènes endogènes favorisant le développement des seins et des canaux galactophores.

La forte augmentation d'estrogènes circulants entraîne aussi la maturation de l'appareil génital (développement de la musculature lisse des trompes et de l'utérus, prolifération cellulaire de la muqueuse endométriale utérine etc. comme détaillé en Annexe 7) et la croissance de l'organisme en général.

Des compléments sur le développement pubertaire se trouvent en Annexe 9.

Des auteurs ont mené une étude sur le déroulement de la puberté chez les jeunes filles en recueillant des informations auprès de leurs parents.

Il en ressort que les jeunes filles ayant consommé du lait infantile à base de soja présentent une thélarche prématurée (60).

Cette observation est à approfondir car d'autres facteurs environnementaux peuvent entrer en jeu et il existe un possible biais d'information lors du recueil des données. Mais nous ne pouvons exclure aujourd'hui un possible lien entre la prise de lait infantile à base de soja et une perturbation du développement de la thélarche chez les jeunes filles.

c) Cycle menstruel

De la puberté à la ménopause, période d'activité génitale, la production des gamètes femelles est cyclique. Un cycle menstruel dure en moyenne 28 jours et est divisé en deux cycles simultanés : le cycle ovarien, au cours duquel il y a maturation et émission de l'ovocyte, et le cycle utérin correspondant aux modifications cycliques de la muqueuse utérine, marquées par les menstruations, appelées ménarche lorsqu'il s'agit des premières menstruations des jeunes filles (plus de détails en Annexe 8).

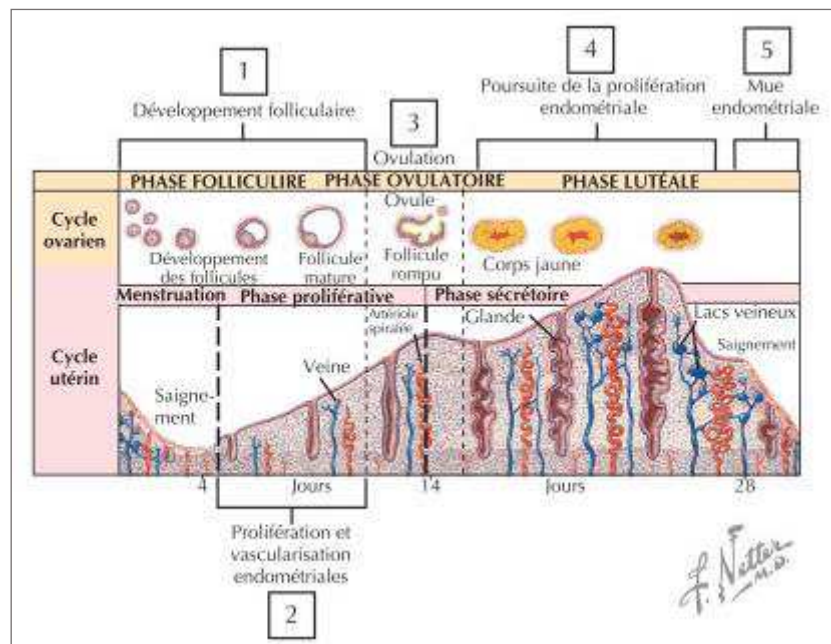


Figure 11 : Représentation schématisée du cycle menstruel (61).

1 : La phase folliculaire est sous l'influence de la FSH.

2 : Les estrogènes sont responsables de la prolifération et de la vascularisation endométriale.

3 : Un pic d'estrogènes aux alentours du 12^{ème} jour du cycle déclenche, par rétrocontrôle positif, un pic de LH déclenchant l'ovulation dans les 36-48h (aux alentours du 14^{ème} jour). Puis la production d'estrogènes décroît.

4 : La sécrétion de la progestérone démarre lorsque le follicule est mûr, vers le 13^{ème} jour et est responsable de la suite de la prolifération endométriale. À la suite de l'ovulation, les

cellules folliculaires évoluent indépendamment de l'ovocyte, formant le corps jaune sécrétant la progestérone lors de la phase lutéale.

5 : En l'absence de l'implantation d'un ovule fécondé, la production de progestérone décroît, déclenchant les menstruations, durant en moyenne 5 jours.

Une étude s'est intéressée aux femmes ayant consommé de la nourriture à base de soja pendant la petite enfance, et a relevé un nombre significatif d'entre elles rapportant une durée de menstruation plus longue, des pertes intempestives, et une augmentation significative du risque d'inconfort menstruel (62). Ces observations sont-elles les signes de cycles anormaux ? Cela se pourrait mais les auteurs en ont conclu que ce n'était pas inquiétant, malgré le fait que dans ce même groupe de femmes ayant consommé du soja, 3 ont accouché d'un enfant mort-né, contre 0 dans le groupe de femmes nourries au lait de vache (alors que l'effectif de ce groupe est le double de celui nourri au soja). Même si les auteurs se veulent rassurants en conclusion de leurs résultats, il ne faut tout de même pas les négliger car ils suggèrent malgré tout un risque de perturbation endocrinien lors du cycle menstruel de la femme.

De plus, l'étude de D'Aloisio et al (63) associe la prise de nourriture infantile à base de soja à une ménarche précoce (avant 11 ans) ou une ménarche tardive chez les jeunes filles, en recueillant aussi les informations auprès de leurs parents.

Aux Etats-Unis, une étude de cohorte prospective menée sur 5 ans (*Study of Environment, Lifestyle and Fibroids, SELF*) a été mise en place pour identifier principalement l'incidence des fibromes. Ils y ont mis en place un questionnaire alimentaire tenant compte de la prise de soja lors de la petite enfance, et les résultats de ce questionnaire ont été analysés dans divers articles selon leur nature.

Dans l'article (64), le but était de savoir si, chez des femmes âgées de 23 à 35 ans, une alimentation à base de soja durant l'enfance pouvait être reliée aux douleurs menstruelles. Les données recueillies ont permis de mettre en lumière que les femmes déclarant avoir été nourries avec des formules infantiles à base de soja :

- étaient plus susceptibles que les femmes non exposées (20% de chance supplémentaire) d'utiliser des médicaments contre les douleurs menstruelles durant les cinq années suivant la ménarche ;
- avaient 40% de chance supplémentaire d'avoir recourt à une contraception hormonale à cause des douleurs menstruelles ;
- étaient plus susceptibles que les femmes non exposées à la petite enfance de ressentir des douleurs menstruelles modérées à sévères lors des cycles menstruels, pour celles n'ayant pas eu recourt à une contraception hormonale constante de leur 18 à 22 ans.

Une autre étude utilisant aussi les données de l'étude SELF, a analysé la relation entre l'exposition au soja lors de la petite enfance et des modifications des saignements menstruels (65). En comparant les femmes exposées au soja pendant la petite enfance et les femmes non exposées, il est observé :

- un risque accru chez les femmes exposées d'avoir des menstruations avec des saignements abondants de type jaillissant ;
- un risque accru de prise d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) pour des menstruations abondantes ;
- aucune différence au niveau de la durée des saignements menstruels ;
- un impact indésirable des saignements menstruels sur la qualité de vie et l'inconfort menstruel.

Des saignements menstruels abondants peuvent survenir à la suite d'altérations de l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadique et des mécanismes locaux de l'endomètre qui régulent l'excrétion et la réparation de l'endomètre.

Les mécanismes endométriaux locaux, y compris la vasoconstriction, l'hémostase, la croissance épithéliale de l'endomètre, l'inflammation et l'angiogenèse, limitent la perte de sang menstruel, réparent et régénèrent l'endomètre. Bon nombre de ces mécanismes endométriaux locaux sont entraînés par les stéroïdes ovariens.

Pour rappel, la production de stéroïdes ovariens est régie par la libération de gonadotrophines hypophysaires (LH, FSH). Par conséquent, étant donné la relation étroite entre l'utérus et les organes de l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadique, des saignements menstruels abondants peuvent résulter d'un dysfonctionnement au sein de l'un de ces organes, et ce dysfonctionnement pourrait résulter d'une perturbation endocrinienne au cours du développement précoce de la vie.

La petite enfance est une période critique pour le développement de l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadique et pour la différenciation des tissus utérins. Il existe des preuves de la survenue d'une «mini-puberté» dans la petite enfance, caractérisée par l'activation de l'hypothalamus et de l'hypophyse et la libération de gonadotrophines qui entraînent le développement du follicule ovarien avec la production concomitante d'estrogènes. Ces estrogènes sécrétés pourraient alors stimuler les tissus cibles, y compris l'utérus.

Bien que la signification de cette «mini-puberté» chez les nourrissons de sexe féminin ne soit pas bien comprise, les actions post-natales de l'hypothalamus, de l'hypophyse et des ovaires peuvent jouer un rôle dans la maturation des organes reproducteurs et le développement des mécanismes de la boucle de rétroaction. Ainsi, la différenciation du système reproducteur et le développement des mécanismes de rétroaction des stéroïdes au début de la vie post-natale sont susceptibles d'être perturbés par les hormones exogènes.

L'alimentation à base de soja est l'une de ces expositions hormonales exogènes qui pourrait perturber le développement pendant la petite enfance, entraînant une possible modification des saignements menstruels à l'âge adulte.

Ces données préliminaires suggèrent que l'alimentation à base de soja pendant la petite enfance pourrait être associée à un risque accru de saignements menstruels abondants, de perturbation de ces saignements, ou encore de douleurs menstruelles pouvant entraîner un inconfort menstruel altérant la qualité de vie. Mais d'autres études sont nécessaires. Étant donné que les saignements menstruels abondants sont courants, même la faible augmentation du risque qui a pu être observée pourrait se traduire par un impact sur un grand nombre de femmes.

De plus, ces résultats s'ajoutent aux données sur la petite enfance en tant que fenêtre de développement sensible pour la fonction reproductrice féminine.

d) Fertilité

Connaissant un possible risque de relation entre la prise de phyto-estrogènes et la fertilité féminine, des auteurs ont étudié la relation entre la prise d'isoflavones de soja et le risque de nulliparité et nulligravité (66). Une étude transversale incluant 11 688 femmes nord-américaines adventistes (groupe religieux américain), âgées de 30 à 50 ans, a permis de recueillir des données sur leur procréation (étude *Adventist Health Study-2*).

Ce groupe de femmes est caractérisé par une proportion élevée (54%) de végétariennes et un mode de vie sain avec une très faible prévalence du tabagisme et de la consommation d'alcool, avec approximativement 7% de vegans, et 6% indiquant ne pas manger de soja.

La prise d'isoflavones est estimée à 17,9 mg/jour, dose largement supérieure à la moyenne du reste de la population américaine.

Les résultats de cette analyse sont :

- Après ajustement en fonction de l'âge, de l'état matrimonial et du niveau de scolarité, il a été observé une relation inverse entre l'apport d'isoflavones et la probabilité de devenir mère ;
- Chez les femmes ayant un apport élevé en isoflavones (40 mg/jour), correspondant à 12% de l'effectif, la probabilité de donner naissance à un enfant vivant a été réduite d'environ 3% par rapport aux femmes avec un faible apport (10 mg/jour). Même si ce résultat n'est pas significatif, il est important d'avoir conscience qu'un tel risque est possible lors d'un apport important en estrogènes exogènes ;
- Aucune relation n'a été trouvée entre l'apport en isoflavones et la parité ou l'âge à la première naissance chez les femmes primipares ;
- Une relation inverse a été observée entre l'apport en isoflavones et le risque de nulligravité : le risque de n'être jamais enceinte est augmenté de 13% chez les femmes ayant un apport élevé d'isoflavones de soja (40 mg/jour) ;
- Cette relation avec la nulliparité est d'autant plus forte chez les femmes qui ont signalé avoir des problèmes pour tomber enceinte et chez les femmes à la fin de leur période de procréation (âge entre 41 et 50 ans).

Ces constatations nous fournissent des éléments supplémentaires sur les répercussions d'une exposition aux phyto-estrogènes tôt dans la vie pouvant s'exprimer à l'âge adulte, et notamment sur la capacité à procréer.

Cependant, il est important de continuer les recherches, et notamment des études prospectives, pour confirmer ou réfuter ces résultats selon lesquels les isoflavones auraient un impact significatif sur l'appareil reproducteur féminin et la procréation.

e) Exposition des nourrissons et risques à long terme

Les produits alimentaires infantiles à base de soja, contenant donc des phyto-estrogènes tels que la génistéine, représentent une des premières sources non négligeable d'exposition pour les nourrissons car les concentrations sériques en isoflavones atteintes peuvent être importantes. Il est donc intéressant d'étudier l'impact et les possibles répercussions à plus ou moins long terme d'une activité estrogénique exercée par les isoflavones à la suite d'une exposition néo-natale.

Dans l'étude (67), il a été observé un risque de fibrome utérin augmenté chez les femmes ayant consommé du lait infantile à base de soja pendant la petite enfance.

- Cette observation est cohérente avec les rapports selon lesquels l'exposition *in utero* à l'œstrogène synthétique diéthylstilbestrol est également associée au diagnostic de fibrome (68).
- Cette observation est aussi appuyée par des études animales observant également que des souris femelles traitées avec de la génistéine présentent des anomalies histopathologiques au niveau de l'utérus à l'âge adulte (69).

Une autre étude s'est basée sur des données recueillies lors de la cohorte prospective SELF, conçue pour identifier l'incidence des fibromes et leurs facteurs de risque d'apparition et de croissance (70), car les femmes afro-américaines souffrent d'une plus grande morbidité due aux fibromes et ont un développement de la maladie plus précoce que chez les femmes blanches (71,72). Les femmes incluses dans l'étude SELF ont répondu à un questionnaire alimentaire dont les résultats ont été traités dans l'étude (70) avec l'objectif d'évaluer s'il y a une relation entre la prise néo-natale de préparations infantiles à base de soja et l'apparition de fibromes utérins.

Ils ont ainsi mis en évidence :

- qu'il n'y avait pas d'association entre l'alimentation infantile à base de soja et la prévalence de fibrome utérin ;
- les femmes exposées avaient des fibromes significativement plus gros que les femmes non exposées. En moyenne, l'alimentation au soja est associée à une augmentation de 32% du diamètre du fibrome, et une augmentation de 127% du volume total de la tumeur.

Malgré le fait que cette étude nécessiterait plus d'approfondissements et d'élargissement sur les pathologies pouvant être en lien avec des estrogènes exogènes, nous ne pouvons conclure à une innocuité des isoflavones sur le développement infantile et sur les retentissements à l'âge adulte. Il serait nécessaire de multiplier les études pour mieux comprendre les mécanismes mis en jeu pour pouvoir les prévenir si des relations négatives se confirment dans le futur.

4. Etude sur l'exposition lors de la gestation

Lors de la phase lutéale ou sécrétoire (du 14^{ème} au 28^{ème} jour du cycle menstruel), sous l'effet de la progestérone sécrétée par le corps jaune, l'endomètre se différencie et atteint sa maturité pour pouvoir accueillir un zygote à la suite de la fécondation de l'ovule par le spermatozoïde. La période de réceptivité maximale est atteinte entre le 20^{ème} et le 23^{ème} jour.

Avant l'implantation du blastocyste (stade de développement suivant le zygote), l'équilibre hormonal est assuré par les hormones ovariennes et pituitaires. Au début de la grossesse, les estrogènes et la progestérone sont produits par le corps jaune gravidique sous la stimulation de l'hormone chorionique gonadotrophine humaine (HCG) et de la LH. L'activité sécrétoire du corps jaune diminue progressivement dès la 8^{ème} semaine pour être totalement remplacée par le placenta à la fin du 1^{er} trimestre de la grossesse.

La production placentaire d'estrogènes nécessite les enzymes fœtales et les précurseurs androgéniques provenant à parts égales des corticosurrénales maternelles et fœtales, suite à la dégénérescence du corps jaune. Au cours des 2^{ème} et 3^{ème} trimestres de la grossesse, l'estradiol et ses métabolites placentaires représentent 90% de la production estrogénique. Le taux maximal de sécrétion d'estrogènes est de 30 à 40mg/jour.

La grossesse est donc une période où l'imprégnation hormonale est importante, surtout pour le bon développement embryonnaire puis fœtal, et donc une période à risque concernant les expositions aux potentiels perturbateurs endocriniens tels que les phyto-estrogènes. En effet, les estrogènes participent à la croissance et au développement de l'unité fœto-placentaire, et combinés à la progestérone, ils inhibent la lactation lors de la grossesse, permettent la prolifération de l'endomètre, et induisent la croissance utérine. D'autres informations concernant la production hormonale lors de la grossesse sont présentées en Annexe 7.

La génistéine et la daidzéine sont détectées dans le liquide amniotique des femmes enceintes au deuxième trimestre à des taux similaires à ceux observés dans le sérum adulte (1,69 ±1,48 ng/mL avec un maximum à 6,54 ng/ml pour la génistéine, et 1,44 ±1,34 ng/mL avec un maximum de 5,52ng/mL pour la daidzéine), et 10 à 20 fois plus élevés que les taux moyens d'estradiol du liquide amniotique à cette période de la grossesse (73).

Il est donc important d'explorer et d'apprécier les possibles effets des phyto-estrogènes lors d'une exposition *in utero* sur le fœtus.

Dans l'étude (74), des rats femelles gestantes ont reçu de la génistéine à des doses inférieures au Niveau de dose sans Effet Observable (NOEL), qui est de 150mg/kg/jour, afin d'évaluer si une reprotoxicité pouvait être observée à la naissance de la progéniture.

La génistéine est administrée par injection intra-péritonéale à 0 (dose contrôle), 2, 20 ou 100mg/kg/jour du 12^{ème} au 19^{ème} jour de gestation, soit la période critique du développement des organes reproducteurs chez le rat.

La progéniture mâle a été examinée en utilisant les paramètres de reproduction à l'âge adulte. Il a été observé une diminution du poids relatif des testicules, de l'épididyme, des vésicules séminales et des glandes prostatiques chez la progéniture du groupe exposé à 100 mg/kg/jour de génistéine.

Notons que cette dose est tout de même pharmacologique, et pour obtenir cette concentration sanguine chez l'Homme, il faut une grande consommation alimentaire de soja ou une prise de compléments alimentaires contenant des isoflavones.

De plus, il a été observé une augmentation de la concentration de FSH et de LH, et une diminution de la concentration de la testostérone.

Les isoflavones exercent un effet anti-LH et anti-FSH pouvant expliquer la diminution de la testostérone par une inhibition de la production d'androgènes par les cellules de Leydig, normalement stimulée par ces hormones hypophysaires. Cette diminution de testostérone entraînerait une altération de la fonction testiculaire, et la réduction du poids des organes reproducteurs. La testostérone joue un rôle pivot dans la régulation de l'intégrité structurelle et fonctionnelle des organes reproducteurs masculins.

5. Etudes de reprotoxicité : exposition in utero et lactationnelle

Etudes transgénérationnelles sur la reprotoxicité de la génistéine associées aux données d'une étude biologique d'exposition chronique à la génistéine : la lactation de produit à base de soja est-elle néfaste ?

Le National Toxicology Program (NTP) aux Etats-Unis a rendu plusieurs avis sur l'effet des phyto-estrogènes (retrouvés dans les formules alimentaires infantiles) sur le développement des organes reproducteurs et la fertilité des enfants et des adultes qu'ils sont devenus (75).

Globalement les avis sont rassurants même si certains experts expriment des réserves sur les conclusions qui sont publiées. Car en effet aujourd'hui, les études manquent pour pouvoir affirmer que la prise de formules infantiles à base de soja et contenant des doses importantes de phyto-estrogènes sont sans effets néfastes chez les humains.

Le NTP a réalisé en 2005-2006-2007 une étude de reprotoxicité transgénérationnelle chez le rat (76). Le design de cette étude est :

- La génération F0 est composée de mâles et femelles exposés à la génistéine via leur alimentation à l'âge adulte (c'est-à-dire du 40^{ème} jour au 140^{ème} jour post-natal [PND : post-natal day]), puis s'accouplent pour donner :
 - La génération F1, qui va engendrer la génération F2, toutes deux exposées à la génistéine toute leur vie en continue ;
 - La génération F2 va engendrer la génération F3 qui sera exposée jusqu'au sevrage, soit jusqu'au 21 PND ;
 - La génération F3 donnera naissance à la génération F4 qui ne sera pas exposée.
- La femelle gestante est exposée à la génistéine via son alimentation pendant toute la durée de la gestation et de la lactation.
- Divers critères sont analysés et décrits par la suite.

Le design de l'étude de toxicité chronique est (77) :

- Il s'agit d'un essai biologique chronique sur 2 ans utilisant les mêmes doses de génistéine que l'étude transgénérationnelle (500 ppm).
- Une partie de la génération F1 (F1C) est continuellement exposée pendant 2 ans pour évaluer les effets d'une exposition à long terme.
- La deuxième partie de F1 est exposée pendant 140 PND (F1T140), puis reçoit une alimentation contrôle pendant 2 ans, pour déterminer si les effets observés dans l'étude multigénérationnelle conduisent à des effets indésirables à long terme.
- F3 est exposée jusqu'au sevrage (21 PND) puis est nourrie avec une alimentation contrôle pendant 2 ans pour évaluer les effets à long terme d'une exposition lors du développement.
- F4 est nourrie avec une alimentation contrôle pendant 2 ans.

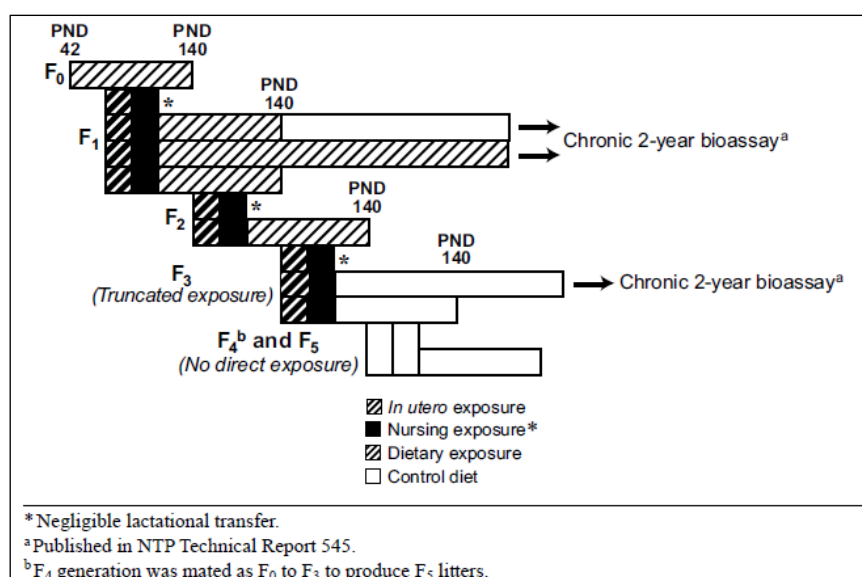


Figure 12 : Schéma du design de l'étude multigénérationnelle (76) et de l'essai biologique chronique de deux ans (77) du NTP. (75)

Tableau 12 : Concentrations sanguines de la génistéine chez des enfants ayant consommé des formules infantiles à base de soja, et chez des rats ayant consommé une alimentation enrichie en génistéine dans l'étude multigénérationnelle (75).

Table 4. Genistein Blood Levels in Human Infants Fed Soy Formula and in Rats Fed a Diet of 500 ppm Genistein in a Multigenerational Study Design

| <i>Population</i> | | <i>Blood Genistein</i> | | <i>Reference</i> |
|--------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|---|----------------------------------|
| | | <i>Total Genistein, ng/ml</i> | <i>Aglycone, ng/ml (%)</i> | |
| Infants fed soy infant formula | 95 th percentile | 2764 | 27.6–82.9 (1–3)* | Personal communication; Cao 2009 |
| Rats ^a | PND 140 | 2145 (female) 1620 (male) | 21.5–107.3 (female) 16.2–81 (male) (1–5%) | Chang 2000 |
| Infants fed soy infant formula | 75 th percentile | 1455 | 14.6–43.7 (1–3)* | Cao 2009 |
| | Median | 891 | 8.9–26.7 (1–3)* | |
| Rats ^a | PND 21 | 505 (female) 564 (male) | 5.1–25.3 (female) 5.6–28.2 (male) (1–5%) | Chang 2000 |

* The fraction of total genistein present as aglycone has not been established for human infants. The estimated range of 1–3% is based on data from adults (Setchell *et al.* 2001).

^a Shaded cells represent studies of rats fed genistein.

500ppm : correspond à 35 mg/kg/j de génistéine pour les mâles et 51 mg/kg/j de génistéine pour les femelles (doses utilisées dans les études susmentionnées). La valeur médiane est celle qui sépare les enfants consommant de la nourriture infantile à base de soja en deux groupes : 50% des enfants sont au-dessus ou en-dessous de la valeur indiquée.

75th percentile : 75% des enfants ont une concentration sanguine inférieure 1455ng/mL (et donc 25% au-dessus).

95th percentile : 95% des enfants ont une concentration sanguine inférieure à 2764ng/mL (et donc 5% au-dessus).

Ce tableau illustre que, malgré le fait que les doses de génistéine utilisées chez le rat lors des études du NTP soient probablement plus faibles que les doses auxquelles peuvent être exposés les enfants via leur alimentation, les concentrations sanguines de génistéine sont comparables. Cela ne permet pas de prouver avec certitude les potentiels effets sur le développement des enfants et ceux pouvant être observés à plus ou moins long terme. Néanmoins cela nous permet de les appréhender et nous conforte dans l'idée qu'il faut pousser les recherches dans certains domaines pour adapter au mieux notre consommation afin de garantir un bon développement infantile.

Les principaux effets significatifs sur le développement, la croissance et la fonction reproductive sont observés dans ces études à partir de 35 mg/kg/jour de génistéine pour les mâles et 51 mg/kg/jour de génistéine pour les femelles (500ppm) :

- Une diminution du nombre de petits par portée est significative à partir de F2.
- L'ouverture vaginale, correspondant au début de la puberté chez le rongeur, est accélérée d'environ 3 jours chez les femelles des générations F1 et F2. Chez le groupe exposé à 5ppm de génistéine (environ 0,35-0,51mg/kg/jour), la génération F3 a une ouverture vaginale précoce de 1,3 jours par rapport aux contrôles (observations partagées par d'autres études citées dans le rapport (75)).
- Observation d'une altération des cycles œstraux : les cycles sont plus longs chez les femelles des générations F1 (3 jours) et F2 (1 jour) par rapport aux contrôles respectifs.
 - De plus, chez F1, observation d'un temps réduit de la période de pré-œstrus et une augmentation du nombre de cycles anormaux.
Un cycle anormal est défini par un minimum de 3 jours consécutifs en œstrus ou un minimum de 4 jours consécutifs en di-œstrus, et selon la durée des cycles. [Les étapes de la reproduction chez les mammifères sont décrites en Annexe 10].
 - F3 : augmentation du nombre de cycles anormaux.
 - Dans l'étude chronique de 2 ans : il a aussi été observé une altération de la cyclicité œstrale plus précoce par rapport aux contrôles, coïncidant avec une accélération de la sénescence des fonctions reproductrices (correspondant à une réduction anticipée du nombre de follicules primordiaux) typique des rats Sprague-Dawley utilisés dans leurs études.
- Diminution du poids corporel
 - Pas de diminution du poids à la naissance.
 - Mais toutes les générations montrent, par rapport aux contrôles respectifs, un plus faible gain en poids corporel pendant la période de pré-sevrage.
 - En post-sevrage, la diminution du poids corporel par rapport aux contrôles est prédominante chez les femelles des générations exposées à la génistéine à l'âge adulte (soit de F0 à F2).
 - D'autres études administrant de la génistéine via la nourriture pendant la gestation, lactation et/ou vie post-natale ont observé une diminution du poids corporel transitoire ou permanent chez les animaux des diverses portées (78–83).
- Augmentation du temps de descente testiculaire chez les mâles de F3 : seul effet observé chez les mâles au niveau de leur développement sexuel.

Compte tenu de la conception expérimentale des études multigénérationnelles, il est impossible de déterminer si les effets observés pourraient être attribués à une exposition pendant la période de lactation uniquement. Les expositions par transfert placentaire, exposition lactationnelle et ingestion d'aliments pourraient toutes avoir contribué aux résultats rapportés. Nous ne pouvons donc extrapoler ces résultats à la seule période de lactation où des nourrissons seraient exposés aux formules infantiles à base de soja.

Des études menées en conjonction avec l'étude multigénérationnelle du NTP ont montré que la génistéine traverse facilement le placenta, et que le transfert lactationnel pendant l'allaitement est limité (84). En effet, les résultats spécifiques sont que les concentrations sériques fœtales de génistéine totale étaient environ 13 à 28 fois plus faibles que les concentrations maternelles après le traitement des mères de rats Sprague-Dawley avec une dose de gavage unique de 20, 34 ou 75 mg/kg de poids corporel de génistéine au 20^{ème} ou 21^{ème} jour de la gestation.

Cependant, le pourcentage de génistéine présente sous forme d'aglycone était plus élevé chez les fœtus par rapport aux mères à tous les niveaux de dose. Ce qui entraîne des taux sanguins de génistéine aglycone biologiquement active similaires entre le fœtus et la mère par rapport aux niveaux de génistéine totale.

En revanche, il y avait un transfert limité de génistéine des mères aux ratons pendant la lactation. Lors de l'étude (85), les chercheurs ont nourri des mères de rats à 500 ppm de génistéine (51 mg/kg poids corporel/jour) via l'alimentation, en commençant immédiatement après la mise à bas et ont évalué les expositions internes à la génistéine chez les petits au début de la période postnatale, lorsque ils allaitaient exclusivement. Les niveaux sériques moyens de génistéine mesurés à 10 PND chez les mères étaient environ 2,6 fois plus élevés que les niveaux de génistéine dans le lait collecté à 7 PND (respectivement 1,22 µM ou 329,7 ng/ml contre 0,47 µM ou 127,0 ng/ml). En se basant sur l'apport quotidien, la dose alimentaire estimée de génistéine ingérée par la mère était environ 100 fois plus élevée que la dose retrouvée dans le lait maternel à laquelle sont exposés les nouveau-nés (51 contre 0,51 mg/kg/jour). Les taux sériques chez les petits étaient environ 30 fois inférieurs à ceux des mères (0,039 µM contre à 1,22 µM).

Le transfert lactationnel limité de la génistéine suggère que les effets observés dans la génération F3 ont été induits par une exposition *in utero* ou indiquent une réponse très sensible à l'exposition néonatale via la lactation.

Une autre étude soutient l'hypothèse de la sensibilité de la réponse à l'exposition lactationnelle, car le gain de poids corporel chez les petits de 7 à 10 PND était significativement plus faible pour les petits de mères nourries à la génistéine (1,26 g) par rapport aux petits des mères témoins (1,46 g) (85).

La seule prise de soja lors de la période de lactation (formules lactées infantiles à base de soja pour les nourrissons, en partant du principe que l'exposition lors de l'allaitement est minime pour les nourrissons de mères consommant du soja) ne suffirait

donc pas à observer des effets délétères sur le développement de l'enfant. Ce serait plutôt la conjonction entre l'exposition fœtale via l'alimentation de la mère et l'exposition post-natale lors de l'alimentation du nourrisson. Mais nous verrons par la suite que cette hypothèse peut être modulée, observant dans d'autres études des effets significatifs à la suite de la seule lactation de produits à base de soja.

- **Impact sur la fertilité suite à une exposition alimentaire du nourrisson**

Peu d'études ont été réalisées sur le sujet et les résultats sont la plupart du temps non significatifs mais le risque de reprotoxicité n'est pas écarté au vu des résultats préliminaires observés.

Deux études ont rapporté les effets de l'alimentation des nourrissons en comparant des formules infantiles à base de soja et des formules standards à base de lait de vache, en alimentant directement des marmousets mâles (primates non humains) pendant la période de lactation (à partir de 4 PND ou 5 PND à 35-45 PND). Le groupe d'étude comporte 13 jumeaux (1 nourri aux soja, l'autre au lait de vache) (42).

Le lait infantile à base de soja utilisé est de la marque SFM. Sur la base de la teneur moyenne en isoflavones, l'apport d'isoflavones chez les marmousets a été estimé à 1,6-3,5 mg/kg/jour, soit 40 à 87% de celui rapporté chez les nourrissons humains de 4 mois nourris qu'avec le lait SFM.

À la fin du traitement, les mâles nourris au lait de soja avaient des taux de testostérone plasmatique significativement plus faibles que leurs co-jumeaux nourris au lait de vache.

L'analyse histopathologique des testicules d'un sous-ensemble de co-jumeaux à partir de 35 PND à 45 PND a révélé une augmentation de l'abondance des cellules de Leydig par testicule chez les marmousets nourris au lait de soja par rapport à leur co-jumeau, sans changement significatif du poids testiculaire.

Une étude de suivi a ensuite été menée sur les animaux restants lorsqu'ils étaient sexuellement matures (80 semaines ou plus ; n = 7 co-jumeaux).

Les mâles nourris avec le lait infantile au soja pendant leur enfance avaient des testicules significativement plus lourds ainsi qu'une augmentation du nombre de cellules de Leydig et de cellules de Sertoli par testicule, contrairement aux témoins nourris au lait de vache, chez qui il n'a été constaté aucun effet significatif lors de la puberté, sur les taux de testostérone plasmatique chez l'adulte, ou sur la fertilité.

Les auteurs suggèrent que l'augmentation du poids des testicules était probablement due à une augmentation des populations de cellules testiculaires (86).

L'exposition aux isoflavones des marmousets étant estimée plus faible que celle des nourrissons humains et sachant que les animaux étaient allaités par leur mère la nuit et pendant les week-ends, les auteurs suggèrent que ces études pourraient sous-estimer les effets des laits infantiles au soja sur le développement testiculaire humain.

En effet, les effets sur l'être humain pourraient être similaires voire plus importants que chez le marmouset. La question de savoir si les effets décrits chez le marmouset entraînent des effets à plus long terme est encore à l'étude.

De plus, le petit nombre d'animaux étudiés et le manque d'informations sur la variabilité normale des paramètres limitent la significativité de ces études. Malgré cela, nous ne pouvons écarter un risque d'effets négatifs sur le développement du nourrisson masculin nourri uniquement avec du lait infantile au soja.

Afin de répondre à la question de l'impact de l'exposition lactationnelle au soja chez l'humain, une étude chez des nourrissons humains a comparé différents moyens d'alimentation des nourrissons et leurs potentiels effets sur le développement du tractus génital (87).

Pour ce faire, trois groupes ont été formés :

- Le premier comprenant des nourrissons nourris avec du lait infantile à base de soja ;
- le deuxième nourris avec du lait infantile à base de lait de vache ;
- le troisième allaités par leur mère.

Le volume des bourgeons mammaires, de l'utérus, des ovaires, de la prostate et des testicules a été évalué par échographie à 4 mois de vie des nourrissons. Les résultats rapportés sont :

- Qu'il n'y a aucune différence entre les différents groupes concernant les bourgeons mammaires et le volume utérin chez les filles ;
- Les filles nourries au lait de vache ont un volume ovarien moyen plus élevé et un nombre plus élevé de kystes ovariens par ovaire par rapport aux filles allaitées ;
- Chez les garçons, aucune différence n'est constatée entre les groupes concernant le volume de la prostate et les bourgeons mammaires ;
- En revanche, le volume testiculaire moyen ne diffère pas entre le groupe nourri au lait de soja et celui au lait de vache. Néanmoins, ces deux groupes ont un volume testiculaire plus faible que celui allaité.

En conclusion, il n'y a pas de différences majeures entre ces trois types d'alimentation chez le nourrisson à 4 mois concernant la taille des organes reproducteurs. Il se peut que le développement testiculaire chez les garçons nourris avec du lait infantile à base de soja ou de lait de vache soit plus lent que chez les garçons allaités.

Même s'il n'y a pas de preuve que le lait de soja ait un impact négatif sur le développement apparent des organes reproducteurs, nous ne pouvons écarter la thèse d'une reprotoxicité. En effet, le principal problème rencontré suite à ces expositions précoces est que les effets ne peuvent être observés que des dizaines d'années plus tard, pour deux raisons : la phase de repos sexuel d'une part, l'exposition environnementale très probable à d'autres perturbateurs endocriniens d'autre part, constituant des biais d'exposition.

Ce risque est d'autant moins écarté que l'on connaît l'existence d'effets épigénétiques de la génistéine et des autres isoflavones contenues dans le soja qui peuvent entraîner des effets à long terme. Certaines études rapportent de potentiels effets de la génistéine à la suite d'une exposition *in utero*, résultant d'effets épigénétiques.

Une étude nourrit des souris de l'âge de 8-10 semaines jusqu'à la lactation de leur progéniture, en passant par la gestation, avec 250mg/kg de génistéine via leur alimentation. Cette dose correspondrait chez l'Homme à une alimentation riche en soja. L'ADN de la progéniture est étudiée à 21 PND, et il est observé une hyperméthylation de l'ADN au niveau du gène codant la couleur du pelage, s'accompagnant d'un changement phénotypique, qui persiste à l'âge adulte, diminuant l'expression ectopique de ce gène. Cette méthylation de l'ADN est similaire dans les tissus ectodermiques, endodermiques et mésodermiques, supposant que la génistéine a agi à un stade précoce du développement embryonnaire et n'épargnant aucun feuillet embryonnaire, et donc potentiellement aucun organe (88).

Une autre étude avait pour objectif de déterminer si l'exposition au soja est associée à une méthylation différentielle de l'ADN dans les cellules vaginales des fillettes nourries avec une alimentation infantile à base de soja (89).

Pour ce faire, ils ont évalué la méthylation de l'ADN à l'échelle de l'épigénome dans les cellules vaginales de filles nourries au soja et de filles nourries au lait maternisé, incluses dans l'étude *Infant Feeding and Early Development* (IFED). Toutes les filles sélectionnées ont été suivies de la naissance jusqu'à l'âge de 9 mois.

L'IFED est une étude de cohorte longitudinale ayant pour but d'identifier s'il y a des différences d'effets, résultant d'une stimulation aux estrogènes chez des enfants nourris avec du lait maternisé à base de lait de vache, de soja ou du lait maternel.

Leur hypothèse est que l'exposition à la génistéine très tôt dans la vie du nourrisson peut entraîner des modifications ultérieures du système reproducteur par altération épigénétique des tissus de l'appareil reproducteur.

En utilisant le pyroséquençage, ils ont suivi les deux sites les plus différentiellement méthylés dans 214 échantillons de cellules vaginales prélevés en série entre la naissance et l'âge de 9 mois sur 50 filles (28 nourries au soja, 22 nourries au lait maternisé de vache).

Cette expérience a révélé que les niveaux de méthylation divergeaient progressivement avec l'âge, les différences ponctuelles devenant statistiquement significatives après 126 jours.

L'analyse à l'échelle de l'épigénome a été réalisée sur les échantillons de 4 filles nourries au soja et 6 filles nourries au lait de vache. Cette analyse a suggéré des différences de méthylation entre les nourrissons dans le gène riche en proline 5 like (PRR5L). Ce gène a été choisi car il code une protéine régulant les processus cellulaires, principalement la survie cellulaire et l'organisation du cytosquelette, et répond à une stimulation estrogénique via les REs.

La conclusion de ces résultats est que les filles nourries avec du soja ont une altération de la méthylation de l'ADN des cellules vaginales pouvant être associée à une diminution de l'expression d'un gène sensible aux estrogènes.

Ce résultat a été confirmé sur un modèle de souris, où ils ont examiné les effets de l'exposition néonatale à la génistéine sur les niveaux d'ARNm spécifiques du gène dans les tissus vaginaux. Les souris exposées à la génistéine ont montré une diminution de 50% des taux vaginaux d'ARNm PRR5L par rapport aux témoins.

L'expression de gènes sensibles aux estrogènes peut donc être perturbée par une exposition néonatale aux isoflavones de soja.

- **Impact sur le développement de la glande mammaire selon le moment de l'exposition**

Lors des prochaines études citées, le critère observé concerne les bourgeons terminaux de la glande mammaire (terminal end buds, TEBs), car ils sont considérés comme très sensibles aux cancérogènes chimiques. Donc une diminution de l'abondance des TEBs est un indicateur d'une diminution de la sensibilité au cancer (90).

Chez le mâle

Dans l'étude réalisée par le NTP (75), il a été observé :

- Une augmentation de l'incidence d'hypertrophie de la glande mammaire dès la dose de 25ppm/jour (1,75 mg/kg/jour),
- Une augmentation de l'incidence d'hyperplasie de la glande mammaire dès la dose de 250ppm/jour (17,5 mg/kg/jour).

Ces effets sont d'autant plus importants chez les générations F1 et F2 exposées tout au long de leur vie, par rapport aux générations exposées tardivement pendant l'adolescence et l'âge adulte (F0), et par rapport à F3 exposée seulement jusqu'au sevrage.

Aucune observation de ce type n'a été faite chez la génération F4 non exposée à la génistéine.

Une hyperplasie alvéolaire et canalaire de la glande mammaire est aussi observée dans d'autres études chez des rats mâles exposés à 500ppm (35 mg/kg/jour) de manière significative chez les générations F0, F1 et F2, et non significative chez F3 par rapport au groupe contrôle.

Cette hyperplasie, se caractérisant par une augmentation du nombre de TEBs et une prolifération des cellules épithéliales, aboutit à une augmentation de la taille et de la densité tissulaire des glandes mammaires des rats exposés.

En revanche, aucune preuve d'activité cancérigène n'a été observée chez les mâles de toutes les générations au niveau de la glande mammaire et des autres tissus.

Chez la femelle

Le moment de l'exposition au cours du développement semble être important pour déterminer l'impact des isoflavones de soja sur le rythme de développement de la glande mammaire et la susceptibilité au risque de cancer. En général, il semble y avoir un manque de consensus quant à savoir s'il existe ou non un effet « protecteur » ou un risque accru d'hyperplasie / tumeur après une exposition à la génistéine pendant la période de lactation.

Dans une évaluation de trois études chez les rongeurs (91–93), il a été observé chez les animaux traités que les TEBs étaient en plus grand nombre plus tôt dans le développement et en plus petit nombre plus tard dans le développement par rapport aux témoins. Ce qui suggère un développement précoce de l'épithélium mammaire. Toutes ces études ont utilisé une injection sous-cutanée de génistéine directement aux nouveau-nés à des doses allant de 0,7 à 50 mg/kg/jour. Le moment de l'exposition varie légèrement entre ces trois études, mais ils ont tous inclus au moins 5 jours d'allaitement.

L'étude (91) a ensuite exposé des rats à 20 mg de génistéine/jour (soit environ 1mg/kg de poids corporel/jour) pendant leur période pré pubère, soit de 7 à 20 PND. Cette étude rapporte une diminution de la multiplicité des tumeurs, mais pas de l'incidence, suite à l'exposition d'un cancérigène chimique (le 7,12-diméthylbenz(a)anthracène, DMBA) par rapport aux témoins.

Lamartinière a étudié la daidzéine, moins concernée par les recherches par rapport à la génistéine, pour évaluer sa potentielle toxicité sur la fertilité et le développement de l'appareil reproducteur chez les rats femelles. Il a administré à 3 groupes différents 0, 250 (faible dose) ou 1000mg/kg de nourriture de daidzéine (forte dose) à des rates vierges deux semaines avant la reproduction et jusqu'à ce que la progéniture ait 50 PND (donc lors de la lactation aussi) (94).

Les concentrations sériques de daidzéine chez les rates adultes exposées étaient 6 à 13 fois plus élevées que chez les asiatiques ayant un régime traditionnel riche en soja.

Les deux doses n'ont eu aucun effet apparent sur la fertilité, sur le nombre de mâles et femelles dans la progéniture et sur les distances anogénitales.

Il a été observé dans le groupe exposé à une forte dose :

- Une réduction du poids corporel de la progéniture femelle ;
- Une réduction du nombre de petits par portée par rapport aux témoins pour les 2 doses de daidzéine ;
- Une diminution de la concentration de progestérone circulante.

La progéniture des deux groupes exposés a présenté une diminution légère mais non significative du poids ovarien et utérin, ainsi que de la taille de la glande mammaire (diminution non significative du nombre de TEBs).

L'analyse histopathologique de l'appareil génital de la progéniture femelle à 50 PND n'a montré aucune modification au niveau vaginal, utérin, ovarien et de la glande mammaire (pas de lésions histopathologiques).

La progéniture, dont la mère a été exposée à la faible dose de daidzéine, n'a pas présenté d'altération du développement normal de la glande mammaire, mais n'a pas non plus présenté d'effet protecteur lors d'une induction chimique par le diméthylbenz(a)anthracène d'une tumeur mammaire.

Conclusion : des doses supraphysiologiques de daidzéine administrées via l'alimentation n'ont pas causé d'effets toxiques significatifs sur la fertilité et l'appareil reproducteur, ni d'effet protecteur vis-à-vis d'une induction chimique de cancer du sein.

Une autre étude chez le rat a rapporté le développement de structures lobulo-alvéolaires, souvent corrélées à une diminution de la sensibilité à un cancérigène (92). En effet, suite à l'exposition de 50 µg/jour de génistéine de 7 à 20 PND, l'évaluation de la morphologie de la glande mammaire a révélé une réduction de la taille de la zone épithéliale mammaire et du nombre de TEBs, ainsi qu'une augmentation de la densité des structures lobulo-alvéolaires. La diminution des cibles du cancérigène (soit les TEBs) peut expliquer la diminution de la sensibilité à cette substance et donc une diminution des phénomènes de différenciation malignes à l'origine de tumeur.

Deux autres études sur le rongeur semblent être en faveur d'un effet protecteur sur le développement de la glande mammaire femelle suite à l'exposition à un isolat de protéine de soja. Ces études évaluent les effets sur l'abondance des TEBs ou la réponse à une provocation cancérigène chimique. Un isolat de protéine de soja a été administré aux rats via leur alimentation dès la préconception pour l'étude (95), dès la grossesse pour l'étude (96), puis pendant l'allaitement et tout au long de la vie de la progéniture femelle F1.

Dans ces deux expériences, les rats F1 exposés ont présenté une latence plus longue pour développer des tumeurs de la glande mammaire et une incidence plus faible de femelles avec au moins une tumeur de la glande mammaire après exposition à un cancérigène chimique à 50 PND.

Cependant, une étude chez le rat (97) et une étude chez la souris (93) ont chacune observé des modifications histologiques au niveau de la glande mammaire non négligeables.

En effet, l'étude (97) a exposé *in utero* des rats du jour 9 à 16 de la gestation. Puis la progéniture a été divisée en deux groupes : un groupe contrôle et un groupe exposé en période néonatale (de 2 à 8 PND) à une dose de 10 µg/g de poids corporel/jour de génistéine en injection sous-cutanée. L'évaluation de la glande mammaire a été faite à 200 jours de vie (environ 6 mois) :

- Dans le groupe contrôle exposé seulement *in utero*, des modifications histologiques légères (hyperplasie de l'épithélium canalaire) ont été observées sur un nombre non significatif d'animaux.

- Dans le groupe exposé *in utero* et en période néonatale, il a été observé une hyperplasie canalaire et une fibrose chez un nombre significatif d'animaux.

De plus, dans l'étude (93), des souris ont été exposées à la génistéine via des injections sous-cutanées à différentes doses, définissant trois groupes : 0,5, 5 et 50mg/kg/jour de 1 à 5 PND (exposition néo-natale). Les glandes mammaires ont été évaluées en deux temps :

- Première évaluation à 4 semaines (avant la puberté) :
 - Le groupe exposé à 50 mg/kg/jour présente un développement retardé de la glande mammaire, caractérisé par un nombre plus faible de ramification, ainsi qu'une diminution du nombre de TEBs à 6 semaines par rapport aux témoins.
 - Le groupe exposé à 0,5 mg/kg/jour a présenté un développement avancé de la glande mammaire par rapport aux témoins et un nombre plus important de REs. Cela montre l'importance de la dose. La plus faible est plus proche de l'exposition alimentaire.
 - Le nombre de REs est inférieur aux témoins et au groupe exposé à 0,5 mg/kg/jour de génistéine pour les deux autres groupes exposés.
- Une deuxième évaluation des glandes mammaires est réalisée à 9 mois de vie des souris vieillissant normalement après l'exposition néo-natale : les souris exposées à 5 et 50 mg/kg/jour de génistéine ont présenté une morphologie épithéliale altérée avec un développement alvéolaire lobulaire réduit et une hyperplasie avec des lésions pré-néoplasiques.

Nous pouvons donc supposer qu'une exposition néonatale entraîne, à partir d'une certaine dose de génistéine, des modifications morphologiques de la glande mammaire non négligeables et sur le long terme, pouvant présager d'un risque de cancer du sein, que nous traiterons plus en détail par la suite. En outre, l'exposition *in utero* pourrait potentiellement renforcer les effets négatifs de la génistéine lorsque l'exposition est prolongée en post-natal.

De plus, dans le NTP Technical Report 545 (77) rapportant les résultats de l'étude chronique menée sur 2 ans, il y avait des preuves de cancérogénicité basées sur une incidence accrue d'adénome de la glande mammaire ou d'adénocarcinome et de néoplasmes de l'hypophyse chez les femelles du groupe exposé F1C. Les effets de la génistéine sur la glande mammaire étaient moins évidents avec des périodes d'exposition plus courtes et des preuves équivoques d'adénomes ou d'adénocarcinomes de la glande mammaire ont été signalées chez les femelles exposées de la conception au sevrage (groupe F3), ou de la conception à 140 PND (groupe F1T140).

Boucher et al. (98), avec le soutien de l'Alliance canadienne pour la recherche sur le cancer du sein et de la section Ontario de la Fondation canadienne du cancer du sein, ont examiné la relation entre la consommation de lait pour nourrissons à base de soja et le risque de cancer du sein dans une étude cas-témoin basée sur la population.

Des questionnaires ont été envoyés par la poste à 4 109 femmes identifiées dans le registre âgées de 25 à 74 ans ayant reçu un diagnostic de cancer du sein entre juin 2002 et avril 2003 et à 4 098 témoins appariés dans des groupes d'âge de 5 ans.

Le questionnaire comprenait une demande de consentement pour établir un contact maternel afin de savoir avec quoi les participants à l'étude étaient nourris de la naissance à 4 mois et de l'âge de 5 à 12 mois. Les options d'alimentation étaient :

- le lait maternel uniquement,
- les préparations à base de lait de vache uniquement,
- les préparations à base de soja uniquement,
- le lait maternel et les préparations à base de lait de vache,
- le lait maternel et les préparations à base de soja,
- lait de vache et lait de soja,
- et « autres ».

Les résultats statistiques ne sont pas significatifs mais concordent avec d'autres études sur le fait qu'il existerait potentiellement un effet protecteur d'une exposition aux isoflavones de soja pendant la petite enfance contre le cancer du sein.

Cependant, les formules pour nourrissons à base de soja recensées ne sont pas précisées, pouvant constituer un biais car toutes les formules ne sont pas identiques et donc ne contiennent pas la même quantité d'isoflavones. Les résultats non significatifs pourraient s'expliquer par le fait que le nombre de patientes exposées aux formules à base de soja uniquement est faible. Cet aspect mérite donc plus d'études et il est aujourd'hui impossible d'écarter un risque de développement du sein, ou d'affirmer un effet protecteur du soja vis-à-vis de celui-ci.

Le NTP estime que les études humaines sur le sujet n'apportent pas de preuves suffisantes pour réellement évaluer l'impact, positif ou négatif, de la consommation de lait pour nourrissons à base de soja sur le développement des organes génitaux chez les enfants.

L'évaluation la plus complète de la fonction reproductrice des hommes et des femmes après la consommation de préparations à base de soja chez les nourrissons n'a pas signalé d'impacts significatifs, mais elle manquait également de puissance suffisante pour exclure des risques accrus. De plus, mêmes si les études sur les animaux apportent des informations très enrichissantes sur le sujet, il est difficile, sans études complémentaires sur les humains, d'extrapoler les résultats observés car les formes libres actives des isoflavones de soja ne sont pas dans les mêmes proportions chez l'Homme et chez le rat.

In fine, le NTP conclut:

- qu'il y a des preuves claires d'effets indésirables concernant la génistéine avec des expositions alimentaires de 100 à 500ppm/jour, cependant il n'y a pas d'EI évident sur les paramètres de reproduction à des doses inférieures à 100ppm/jour.
- que, concernant d'autres isoflavones ainsi que les laits infantiles à base de soja, il n'y a pas suffisamment de preuves montrant des effets indésirables ou des bienfaits.

IV. Cancers du sein

1. Epidémiologie (99,100)

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme, devant le cancer colorectal et le cancer du poumon.

Son incidence augmente avec le vieillissement de la population, et sa plus grande visibilité liée à la généralisation du dépistage. Sa mortalité a diminué ; et pour cause, entre 1990 et 2018 :

- Taux d'incidence standardisé : +1,1% par an en moyenne.
- Taux de mortalité standardisé : -1,3% par an en moyenne.

Son dépistage à un stade précoce permet un pronostic plus favorable avec un taux de survie net standardisé sur l'âge à 5 ans de 87% et à 10 ans de 76%.

Dans les années 2000, une baisse de l'incidence a été observée, principalement chez les femmes de la tranche d'âge 55-64 ans. Cet épisode a été en partie attribué à une forte diminution de la prescription des traitements hormonaux substitutifs de la ménopause (THM) après 2003, suite aux alertes concernant de possibles impacts négatifs d'une supplémentation d'estrogènes (101).

Selon le rapport du CIRC, 37% des cancers du sein seraient actuellement liés à des facteurs de risque modifiables, tels que l'alcool, le surpoids, la sédentarité, le tabac... communs à diverses pathologies cancéreuses, mais aussi des facteurs de risque plus spécifiques tels que l'exposition à des xéno-estrogènes pour le cancer du sein. Malgré la faible communication sur ce point, il est important de persévérer dans les recherches pour caractériser l'association entre l'exposition aux estrogènes exogènes (tels que les phyto-estrogènes) et le risque de développer un cancer du sein. De plus, les efforts de prévention vis-à-vis des facteurs de risque modifiables pour diminuer le taux d'incidence de cette pathologie doivent être poursuivis.

Au sein de l'Union Européenne :

- Parmi les pays ayant le plus haut niveau d'incidence, la France est à la 8^{ème} place.
- Parmi les pays ayant les taux de mortalité les plus élevés, la France est à la 11^{ème} place.

Au niveau mondial, les taux d'incidence les plus élevés sont observés dans les pays les plus développés. Mais les taux de mortalité les plus élevés sont observés dans les pays les moins développés. Il faut évidemment tenir compte du fait que ces classements sont intimement liés aux performances de dépistage et des services de santé de chaque pays, pointant du doigt une inégalité sur les prises en charge médicales et les systèmes de soin.

La France compte parmi les pays européens où le taux de survie est le plus élevé.

L'âge moyen au diagnostic est de 63 ans. Plus de 60% des cancers surviennent après 50 ans.

Les données des registres des cancers montrent que :

- 6 cancers du sein sur 10 sont diagnostiqués à un stade précoce,
- 3 sur 10 à un stade intermédiaire,
- 1 sur 10 à un stade avancé.

En 2018 le taux national de participation au dépistage est de 50,3%, soit environ 2 595 000 femmes de 50-74 ans dépistées au cours de l'année dans le cadre du programme national de dépistage organisé du cancer du sein.

Tableau 13 : Données épidémiologiques du cancer du sein en France métropolitaine en 2018 (99).

| Incidence | Mortalité | Survie | Prévalence | Prévention et dépistage |
|---------------------|------------------|-------------|---|---|
| 58 459 nouveaux cas | 12 146 personnes | 87% à 5 ans | 219 756 cas diagnostiqués lors des 5 dernières années et toujours vivants | 50,3% des femmes dépistées dans le cadre du programme de dépistage organisé |

Le cancer du sein reste tout de même la première cause de décès par cancer chez la femme devant le cancer du poumon, avec un âge médian au décès de 74 ans.

2. Physiopathologie

a) Anatomie (102)

Le sein est constitué :

- d'une glande mammaire, composée de 15-20 compartiments séparés par du tissu graisseux,
- de tissu de soutien contenant des vaisseaux (sanguins, lymphatiques),
- de fibres,
- de graisse,
- de muscles.

Les proportions de fibres et de graisse varient d'une femme à une autre selon ses facteurs individuels et de l'âge.

Chaque compartiment de la glande mammaire est constitué :

- de lobules, produisant le lait lors de l'allaitement,
- et de canaux transportant le lait vers le mamelon.

La glande mammaire se développe et fonctionne sous l'influence des hormones sexuelles produites par les ovaires : les œstrogènes et la progestérone, et par les hormones hypothalamo-hypophysaires : la prolactine et l'ocytocine.

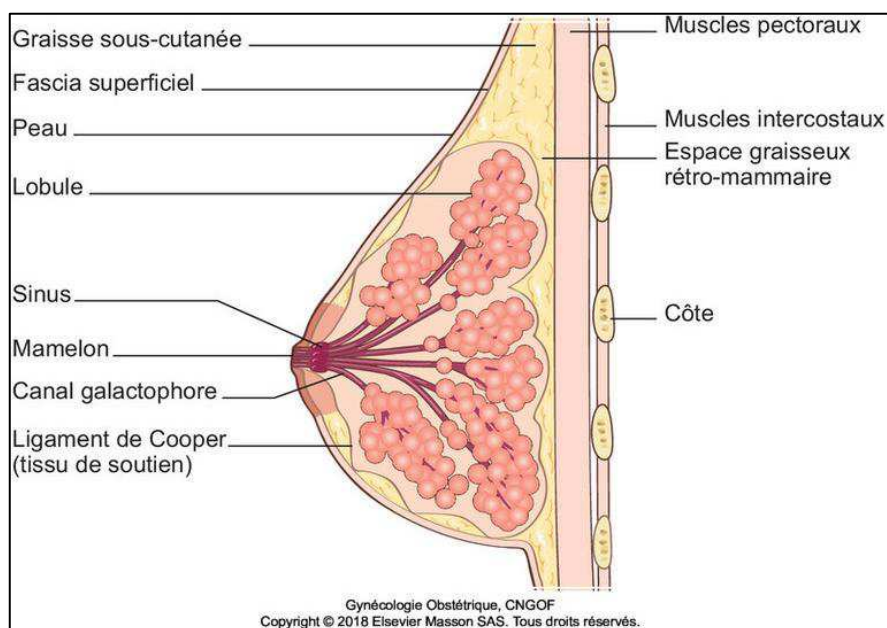


Figure 13 : Anatomie du sein, observation en coupe para-sagittale schématique passant par le mamelon. (102)

b) Anatomopathologie (102,103)

La cancérisation des cellules épithéliales mammaires altère 3 grandes fonctions cellulaires :

- La multiplication sans contrôle,
- La capacité de déplacement des cellules,
- La capacité de franchissement de la membrane basale (= la paroi du canal galactophore).

L'aspect clinique est la résultante de ces modifications.

Il existe des **tumeurs bénignes** caractérisées par des contours bien délimités, une croissance lente et des cellules bien différenciées (fibroadénome, kyste, mastopathie fibrokystique par exemple).

Puis il y a les **tumeurs malignes**, distinguées selon le siège initial des lésions :

- Carcinome canalaire (90% des cancers)
 - In situ : prolifération épithéliale strictement limitée à l'intérieur des canaux galactophoriques.
 - Infiltrant : prolifération maligne se développant à partir des canaux galactophoriques mais franchissant la membrane basale, envahissant ainsi le tissu conjonctif vascularisé sous-jacent, avec un risque d'extension à distance. Il s'agit du cancer le plus fréquent.
- Carcinome lobulaire (10% des cancers)

- In situ : prolifération limitée aux lobules galactophoriques.
- Infiltrant : franchissement de la membrane basale, avec risque d'extension à distance.

Concernant les tumeurs invasives il y a un risque d'extension ganglionnaire, principalement vers les ganglions axillaires puis vers les relais sus-claviculaires. Il y a aussi un risque d'extension métastatique, où le site préférentiel est l'os, puis par ordre décroissant d'incidence, le poumon, le foie, le système nerveux central et la peau.

c) Facteurs de risque (102,103)

Le cancer du sein est une maladie multifactorielle. Lors de son diagnostic, il faut prendre en compte les divers facteurs de risque, externes et internes, exposant les femmes à son développement.

Il existe diverses catégories de facteurs de risque :

- **Hormonaux** : tout ce qui augmente l'exposition aux estrogènes
 - Ménarches précoces < 12 ans,
 - Ménopause tardive > 55 ans,
 - Première grossesse tardive > 30 ans et pauciparité,
 - Absence d'allaitement maternel (car l'allaitement bloque la production d'estrogènes),
 - Obésité post-ménopausique,
 - Exposition aux traitements hormonaux : contraception oestroprogestative, THM.
Le risque est augmenté lorsque la durée du traitement est supérieure à 10 ans.
- **Génétiques**
 - Antécédents personnels et familiaux de cancer du sein, des ovaires, du côlon, de l'endomètre, avec connaissance éventuelle d'une prédisposition génétique (BRCA 1 ou 2, PALB2). Il faut tenir compte de la parenté, de l'âge de survenue, de la bilatéralité, de la multifocalité, et de l'existence de cancer associé.
 - Mutation génétique héréditaire identifiée (dans 5% des cas) :
 - Mutation BRCA1 : risque de cancer du sein de 65%, cancer de l'ovaire 45%.
 - Mutation BRCA2 : risque de cancer du sein 45%, cancer de l'ovaire 11%.
Ces deux gènes BRCA 1 et 2 sont impliqués dans 5-10% des cancers du sein.
 - Mutation du gène ATM (syndrome de Cowden) ; mutation de p53 (syndrome de Li Fraumeni).
 - Autres gènes, pouvant être impliqués plus rarement : STK11 (syndrome de Peutz-Jeghers), PALB2, CHEK2.
- **Environnementaux**
 - Alcool
 - Tabac

- **Iatrogène**
 - Radiations ionisantes

- **Histologiques = lésions pré-cancéreuses**
 - Mastopathie bénigne proliférative quand elle est associée à une hyperplasie épithéliale atypique ou non
 - Carcinome *in situ*

- **Généraux**
 - Age
 - Sexe féminin
 - Haut niveau socio-économique

d) Dépistage (102,104)

Le dépistage a pour objectif de mettre en évidence des cancers de petite taille, à un stade précoce avant l'apparition des symptômes.

Tous les deux ans, dans le cadre du programme de dépistage organisé du cancer du sein, les femmes de 50 à 74 ans, sans symptômes et sans facteurs de risque apparents mis à part leur âge, sont invitées à réaliser une mammographie bilatérale chez un radiologue agréé et un examen clinique. La mammographie fait l'objet d'une double lecture systématique. Ce programme est pris en charge à 100% par l'assurance maladie sans avance des frais.

Sinon le dépistage peut se faire de manière individuelle. Il s'adresse aux femmes à risque élevé ou très élevé, évalué par leur médecin généraliste ou gynécologue, et la stratégie de dépistage est adaptée à la patiente.

Le niveau de risque élevé concerne toutes les femmes ayant un risque particulier, quel que soit leur âge :

- Antécédents personnels de cancer du sein, de l'utérus et/ou de l'endomètre,
- Antécédents personnels d'hyperplasie canalaire atypique, hyperplasie lobulaire atypique ou carcinome lobulaire *in situ*,
- Exposition à une irradiation thoracique à haute dose avant l'âge de 30 ans,
- Antécédent familial de cancer du sein sans mutation retrouvée.

Le niveau de risque très élevé est décrété lorsque les femmes ont une prédisposition génétique :

- Mutation BRCA1 ou 2,
- Antécédents familiaux de cancer du sein avec une mutation génétique.

Pour toutes les femmes, un examen clinique des seins, réalisé tous les ans par un médecin généraliste, gynécologue ou une sage-femme, est recommandé à partir de 25 ans quel que soit le niveau de risque.

Lorsque nous aurons plus de preuves tangibles quant à l'impact de l'exposition aux phyto-estrogènes sur l'apparition du cancer du sein, il nous sera peut-être possible d'en tenir compte lors de ce dépistage organisé, via un questionnaire sur le mode de vie et les habitudes alimentaires par exemple.

e) Diagnostic clinique (102,103)

Le diagnostic clinique se fait en plusieurs étapes et tient compte de différents critères cités ci-après.

Le contexte de découverte

- Au cours d'une autopalpation ou d'un examen par un médecin.
- Par la survenue de symptômes (douleur, écoulement sanglant du mamelon, altération de l'état général), dans les formes évoluées : signes de métastases (douleurs osseuses, dyspnée, toux, nausées, anorexie, amaigrissement, céphalées).
- Lors d'un examen de dépistage.

L'Interrogatoire de la patiente doit permettre de rassembler diverses informations :

- Les facteurs de risque (l'exposition à des xéno-estrogènes tels que les isoflavones de soja ne rentrent pas en ligne de compte, pour le moment) ;
- Son statut gynécologique : âge des ménarches, âge de la ménopause ;
- Traitement pris, en particulier hormonaux ;
- Antécédents personnels et familiaux ;
- La durée d'évolution si la patiente a remarqué d'elle-même certains symptômes.

L'examen clinique est réalisé par un médecin. Il s'agit d'un examen bilatéral et comparatif des 2 seins devant rechercher des signes suspects de malignité :

- Inspection :
 - Du **sein** : recherche de tuméfaction, déformation [Figures en Annexe 11].
 - Du **revêtement cutané** : capiton, ride, pli, inflammation (placard érythémateux, œdème cutané donnant un aspect de peau d'orange) [Figures en Annexe 11].
 - Du **mamelon** et de **l'aréole** : déviation, rétractation, écoulement, lésion eczémateuse (maladie de Paget du mamelon) [Figures en Annexe 11].
- Palpation à la recherche d'un nodule dont il faut préciser certaines caractéristiques :
 - Consistance : dure
 - Limites : irrégulières
 - Sensibilité : indolore
 - Mobilité : fixé, adhérent
 - Taille
 - Topographie

Cet examen des seins est complété d'un **examen bilatéral des aires ganglionnaires**.

Tout ceci est associé à un **examen général à la recherche de signes généraux ou de métastases** :

- Altération de l'état général,
- Douleurs osseuses provoquées à la percussion,
- Hépatomégalie, hépatalgie, ictère,
- Epanchement pleural, dyspnée,
- Déficit sensitivo-moteur, atteinte d'un nerf crânien, hypertension intracrânienne.

Il est aussi nécessaire de réaliser un **examen gynécologique complet** avec recherche de lésions ovariennes ou péritonéales car le cancer de l'endomètre survient sur le même terrain et les mutations de BRCA sont aussi responsables de ces lésions.

f) **Examens complémentaires paracliniques (102,103)**

▪ **Examens d'imagerie**

Pour poser le diagnostic positif de cancer du sein, il est nécessaire de réaliser des examens d'imagerie cités ci-dessous. Les modalités de réalisation de ces imageries sont décrites en Annexe 12.

• **Une mammographie bilatérale :**

Les résultats obtenus à partir de l'étude des clichés sont exprimés selon la classification de l'American College of Radiology (ACR) : les images suspectes de cancer du sein sont classées ACR 4 ou 5.

Tableau 14 : Classification dérivée de l'American College of Radiology (ACR).

| | |
|--------------|---|
| ACR 0 | Classification d'attente, quand des investigations complémentaires sont nécessaires |
| ACR 1 | Mammographie normale |
| ACR 2 | Existence d'anomalies bénignes ne nécessitant ni surveillance ni examen complémentaire |
| ACR 3 | Existence d'une anomalie probablement bénigne pour laquelle une surveillance à court terme (3 ou 6 mois) est conseillée |
| ACR 4 | Anomalie indéterminée ou suspecte indiquant une vérification histologique |
| ACR 5 | Anomalie évocatrice d'un cancer |

- **L'échographie mammaire bilatérale** est réalisée en complément de la mammographie pour préciser les caractéristiques d'une anomalie, avec un temps d'exploration axillaire pour préciser le statut ganglionnaire N.
- **L'imagerie par Résonance Magnétique (IRM) mammaire** n'est pas réalisée systématiquement mais elle peut être demandée par les médecins s'il y a suspicion au niveau du diagnostic ou si la mammographie et l'échographie ne sont pas suffisantes.

- Etudes histologiques

Le diagnostic par imagerie est complété par un diagnostic histologique, réalisé sur des prélèvements anatomopathologiques (biopsies échoguidées ou radioguidées).

L'étude anatomopathologique participe au diagnostic de certitude. Elle est systématique en cas d'images ACR 4 ou 5 pour confirmer le diagnostic. Elle est indispensable avant tout traitement car elle précise le statut des récepteurs hormonaux (RH) et le statut du récepteur-2 du facteur de croissance épidermique humain (Human Epidermal Growth Factor Receptor-2, HER2) de la tumeur.

Les RH pouvant être exprimés sont les récepteurs aux estrogènes (RE) et les récepteurs à la progestérone (RP). Si les cellules tumorales expriment au moins un de ces deux types de récepteurs, le cancer est qualifié **d'hormonodépendant**, c'est-à-dire que la tumeur sera sensible aux ligands hormonaux et donc à l'hormonothérapie.

Le GPER est aussi un RH, compte tenu que la 17βE est un de ses agonistes, mais il n'est aujourd'hui pas pris en compte dans l'analyse anatomopathologique des cellules cancéreuses, malgré son probable rôle dans la croissance et la prolifération cellulaire.

Néanmoins, si la tumeur est RE-positive, il n'est pas précisé quel type de RE est exprimé : REα, REβ ou les deux. Pourtant ces deux récepteurs n'ont pas les mêmes effets lorsqu'ils sont activés, comme nous l'avons vu précédemment. Ceci est aussi vrai lors de situations pathologiques comme le cancer du sein.

Tableau 15 : Récepteurs exprimés par les cellules cancéreuses, et leurs effets (25,105).

| | REα | REβ | REα/ REβ | GPER |
|---------------------------------|--|---|---|---|
| Prolifération cellulaire | Stimulée (Activation du proto-oncogène <i>c-myc</i>) | Inhibée (mais peut dépendre des variants du récepteur exprimés) | Inhibée mais dépend du sous-type de REβ et de la proportion de chaque récepteur exprimé | Stimulée (Activation de diverses cascades de signalisation impliquant l'EGFR, ou encore c-Fos, facteur de transcription impliqué dans la prolifération et la différenciation cellulaire) |
| Apoptose | Inhibée | Favorisée (mais peut dépendre des variants du | Favorisée mais dépend du sous-type de REβ et de la proportion de | Inhibée (Potentielle activation de YAP [Yes associates |

| | | | | |
|--------------------------|--|--|--|--|
| | | récepteur exprimés) | chaque récepteur exprimé | protein] et TAZ [co-activateur de transcription] stimulant la croissance cellulaire) |
| Gène codant le RP | Activation | Activation inhibée | Activation inhibée | / |
| Remarques | Sa présence n'est pas essentielle au développement tumorale (d'autres voies telles que HER2 peuvent être à l'origine de la cancérogénèse), mais l'absence de signalisation hormonale via ce récepteur réprime transitoirement la promotion ou la progression tumorale. | N'active pas le proto-oncogène <i>c-myc</i> : effet protecteur vis-à-vis des cancers hormono-dépendants. | Certains variants de RE β antagonisent par hétérodimérisation l'effet des gènes activés par RE α , et l'activation de gènes normalement non activés par l'un ou l'autre RE. | L'émergence de connaissances concernant ce récepteur ouvre de nouvelles perspectives pour mieux comprendre les phénomènes physiologiques et pathologiques médiés par les estrogènes. Dans les cellules cancéreuses, il est souvent co-exprimé avec RE α . |

Ces connaissances pourraient faire émerger de nouveaux sous-types de cancer du sein, avec des différences au niveau des traitements, adaptés au sous-type histologique.

Les autres éléments recueillis, nécessaires au pronostic et à la prise en charge, sont :

- Le type histologique : carcinome canalaire/lobulaire, infiltrant/in situ,
- Envahissement des berges et qualité de l'exérèse (statut R),
- Grade histopronostique Scarff Bloom et Richardson modifié (SBR) ou Elston-Ellis, établi à partir de 3 paramètres :
 - Différenciation cellulaire
 - Index mitotique
 - Pléiomorphisme des noyaux

Une note de 1 à 3 est attribuée à chaque critère, comme montré dans le tableau ci-dessous :

Tableau 16 : Caractéristiques permettant de donner le grade histopronostic selon Elston Ellis.

| Critère | Note 1 | Note 2 | Note 3 |
|---|--|-----------|--|
| Différenciation et architecture cellulaire | La tumeur contient beaucoup de structures bien formées | Ni 1 ni 3 | La tumeur contient peu ou pas du tout de structures bien formées |
| Noyaux | Petits et uniformes | | Gros, taille et forme varient |
| Index mitotique | Division cellulaire lente, faible nombre de mitoses | | Division rapide : nombre important de mitoses |

Le grade du cancer correspond à la somme des notes obtenues pour chacun des trois critères. On obtient ainsi un score global classé de I à III, correspondant au grade d'Elston-Ellis :

- Grade I (bon pronostic) : scores 3, 4 et 5
 - Grade II : score 6 et 7
 - Grade III (tumeur indifférenciée, mauvais pronostic) : score 8 et 9
- Index de prolifération (utilisation du marqueur Ki67)
 - Statut ganglionnaire
 - Envahissement : nombre de ganglions envahis/ganglions analysés
 - Rupture capsulaire
 - Facteurs prédictifs de réponse au traitement
 - Expression RE et RP
 - Surexpression HER2 (par immunohistochimie et FISH (Fluorescence In Situ Hybridisation))

En cas d'adénopathie suspecte, une biopsie percutanée axillaire peut être réalisée en même temps.

Tous ces éléments recueillis lors des divers examens, couplés à la clinique, permettent la stadification de la maladie : stade TNM (Tumeur, Nœud lymphatique, Métastase), décrit en Annexe 13. Ce stade est défini en préopératoire pour décider de la conduite à tenir avant la prise en charge, puis en post chirurgical après évaluation des données anatomopathologiques.

En plus du stade, il est nécessaire de déterminer les **facteurs pronostics** lorsqu'il s'agit de carcinomes infiltrants car il y a un risque de métastases.

Ces facteurs pronostiques sont :

- Le grade histologique de SBR ou Elston-Ellis,
- La présence ou l'absence d'embolies vasculaires péri-tumorales,
- La taille tumorale,
- Le résultat des marqueurs de prolifération : Ki 67, déterminé par cytométrie en flux lors de la phase S cellulaire (la place du Ki 67 est controversée),
- L'état positif ou négatif des RE et RP,
- L'état de HER2 (0, +, ++ ou +++): seul HER2 +++ est considéré comme positif,
- Existence ou non d'un envahissement lymphonodal.

g) Bilan d'extension (102,103)

Il est indiqué en présence de signes d'appel seulement. Il peut être proposé en préopératoire aux patientes présentant des facteurs pronostics péjoratifs :

- Clinique :
 - Tumeur T3, T4
 - Envahissement lymphonodal (N+)
 - Signes d'appel
- Anatomopathologiques/biologiques :
 - Grade 3
 - RH-
 - HER2 +++

La taille de la tumeur et l'envahissement lymphonodal sont les 2 principaux facteurs prédictifs de métastases asymptomatiques.

Ce bilan est composé d'imageries reposant sur 3 options possibles :

- Radiographie de thorax + échographie hépatique + scintigraphie osseuse
- Tomodensitométrie (TDM) thoraco-abdominale + scintigraphie osseuse
- Tomographie par émission de positons (PET-TDM).

Si nécessaire, ce bilan d'imagerie peut être accompagné d'un bilan biologique comportant un bilan hépatique, calcémie, phosphatases alcalines (PAL), lactate déshydrogénase (LDH).

Une consultation d'oncogénétique peut être proposée à la patiente en vue d'une analyse génétique. Cette analyse nécessite le consentement éclairé et écrit de la patiente. Elle peut être utile à chaque fois qu'existe un contexte héréditaire. Le but de la consultation est la recherche de mutation portant actuellement principalement sur les gènes BRCA1, BRCA2, PALB2, devant des antécédents personnels et/ou familiaux évocateurs.

h) Bilan pré-thérapeutique (102,103)

Les facteurs pronostics déterminent les indications des traitements adjuvants des carcinomes infiltrants. Ceci est discuté en réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP).

Les **facteurs de mauvais pronostic** faisant poser l'indication d'une chimiothérapie sont :

- Age < 35 ans
- Taille de la lésion \geq pT2cm
- Présence d'un envahissement lymphonodal
- Récepteurs hormonaux négatifs
- La sur expression HER2 (à 3+)
- Présence d'embolies vasculaires

La détermination des **facteurs prédictifs de réponse au traitement** permet aussi l'orientation thérapeutique :

- Les RH prédisent l'efficacité de l'hormonothérapie en cas de positivité.
- La surexpression de HER2 à 3+ prédit l'efficacité du trastuzumab.

En regroupant les facteurs, on distingue aujourd'hui 4 grands groupes de tumeurs (classification moléculaire) exprimés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 17 : Classification moléculaire des tumeurs.

| | RE | RP | HER2 |
|-------------------------------|------------------------------|---------|---------|
| Tumeur lumineuse A | Au moins un des deux positif | | Négatif |
| Tumeur lumineuse B | Un des deux positif | | Positif |
| Tumeur triple négative | Négatif | Négatif | Négatif |
| Tumeur HER2 positive | Négatif | Négatif | Positif |

Les phyto-estrogènes peuvent avoir un impact sur ces différents types de tumeurs via diverses voies détaillées par la suite.

Au vu des dernières études réalisées sur les RH et le cancer du sein, il serait possible, après des analyses histopathologiques des lignées cellulaires cancéreuses, d'étoffer cette classification moléculaire en considérant les RE α , RE β , le GPER, et les co-expressions possibles. Ces notions pourraient orienter la stratégie thérapeutique de manière qu'elle soit plus adaptée à la pathologie de la patiente et donc potentiellement plus efficace avec des chances de survie sans rechute améliorée.

D'autant plus qu'une tumeur triple négative et une tumeur HER2 positive peuvent exprimer le GPER et donc, par extension, un type de RH répondant à la stimulation d'estrogènes endogènes et exogènes avec des retentissements potentiellement négatifs sur la prise en charge des patientes et l'évaluation de la pathologie. Ce point sera plus détaillé dans la suite de cet écrit (25).

i) Prise en charge des carcinomes infiltrants (102,103,106–108)

Le traitement est élaboré et validé au RCP pré-thérapeutique à partir des données cliniques, diagnostiques, pronostiques et prédictives de réponse au traitement. Ce qui conduit à un programme personnalisé de soin (PPS), présenté ensuite à la patiente.

Les objectifs des traitements sont :

- Faire l'exérèse de la tumeur et/ou traiter les métastases
- Réduire le risque de récurrence
- Ralentir le développement de la tumeur ou des métastases
- Améliorer le confort et la qualité de vie des patientes en traitant les symptômes engendrés par la maladie

▪ La chirurgie

Elle est pratiquée en 1^{ère} intention en présence de tumeur opérable d'emblée, non métastatique et non inflammatoire.

Il existe deux types de traitement chirurgical selon la taille tumorale, le nombre de foyers, le volume du sein, et les lésions associées éventuelles : le traitement conservateur (tumorectomie ou zonectomie), et le traitement radical (mammectomie).

▪ Radiothérapie

La radiothérapie du sein reste systématique après une mastectomie partielle.

S'il est indiqué une chimiothérapie et une radiothérapie adjuvantes, la chimiothérapie est le plus souvent réalisée en premier. Dans ce cas-là, la radiothérapie doit être réalisée au plus tard 6 mois après la chirurgie et 5 semaines maximum après la chimiothérapie.

▪ Traitements médicaux

Ils sont indiqués en postopératoire (thérapie adjuvante).

Les traitements de référence sont la chimiothérapie, associée ou non à une thérapie ciblée, et l'hormonothérapie. Le choix du traitement est discuté en RCP, après réception des résultats des examens pratiqués sur les prélèvements opératoires et est fonction des facteurs pronostiques et prédictifs de réponse aux traitements.

La chimiothérapie

Elle peut être de 2 types : adjuvante ou néoadjuvante, avec des indications différentes citées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 18 : Indications et modalités des différents types de chimiothérapie.

| | Chimiothérapie adjuvante | Chimiothérapie néoadjuvante |
|-----------------------------------|--|---|
| Indications | <ul style="list-style-type: none">- Taille tumorale \geq 2cm- Atteinte lymphonodale axillaire- Agressivité histologique : grade 3, RH-, HER2+- Femme jeune < 35 ans- Tumeur particulière : triple négative, ou HER2+ | <ul style="list-style-type: none">- Tumeur évoluée non accessible à un traitement conservateur d'emblée- Tumeur inflammatoire- Tumeur particulière : triple négative, HER2+ |
| Modalités d'administration | Fait suite à une chirurgie pour prévenir les récurrences Débutée dans les 3 mois post-chirurgie, associée ou non à une thérapie ciblée | En pré-opératoire pour diminuer le volume tumoral |

Il s'agit de polychimiothérapie pouvant comporter, dans le traitement du cancer du sein infiltrant :

- Le cyclophosphamide
- Un taxane : docétaxel, paclitaxel
- Une anthracycline : doxorubicine, épirubicine
- Le fluoro-uracile
- Le méthotrexate

Avant la première cure, une échographie cardiaque est réalisée pour vérifier la possibilité d'utilisation d'anthracycline.

Avant chaque cure, il est réalisé un bilan pré-thérapeutique comportant :

- Un examen clinique
- Une évaluation de la tolérance des cures précédentes
- Un hémogramme

La toxicité est veineuse (intérêt de la pose d'une chambre implantable), hématologique (leucémie secondaire), cutanée (éruption, pigmentation, alopecie), digestive (nausées, vomissements, diarrhée), hormonale (ménopause iatrogène), neurologique (avec les taxanes), cardiaque (avec les anthracyclines).

Thérapie ciblée

Diverses thérapies ciblées sont utilisées dans le traitement du cancer du sein : le trastuzumab, le bévacizumab, le lapatinib et l'évérolimus.

Tableau 19 : Description des médicaments de la thérapie ciblée (109).

| | Trastuzumab (Herceptin®) | Bévacizumab (Avastin®) | Lapatinib (Tyverb®) | Évérolimus (Afinitor®) |
|--------------------------------|--|---|--|---|
| Indications | 1 ^{ère} intention en association à la chimiothérapie Cancer du sein HER2 positif, stade précoce et stade métastatique | 1 ^{ère} intention, associé au paclitaxel, dans le traitement du cancer du sein métastatique 1 ^{ère} intention, en association à la capécitabine, dans le traitement du cancer du sein métastatique chez des patientes CI aux taxanes ou anthracyclines | Cancer du sein métastatique HER2+ | Cancer du sein avancé avec RH+, associé à l'exémestase (hormonothérapie) chez la femme ménopausée dès récurrence ou progression de la maladie |
| Mécanisme d'action | Anticorps monoclonal humanisé recombinant de classe IgG1 (immunoglobuline G1) anti-HER2 → inhibition des voies de signalisation → inhibition de la prolifération des cellules tumorales exprimant HER2 | Anticorps monoclonal humanisé anti-VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) → inhibition de la vasculogénèse et angiogénèse → inhibition de la croissance tumorale | Inhibiteur de la tyrosine kinase de EGFR et HER2 → inhibition de la prolifération cellulaire | Inhibiteur sélectif de mTOR (Mammalian Target of Rapamycin-Cible) → inhibition de la croissance et prolifération des cellules tumorales |
| Contre-indications (CI) | Hypersensibilité au trastuzumab, aux protéines murines ou à un excipient Dyspnée de repos sévère | Hypersensibilité à la substance ou un des excipients | | |

| | | | | |
|--|--|---|---|--|
| Principaux effets indésirables (EI) | Cardiotoxique Risque infectieux Affections pulmonaires Réactions liées à la perfusion et d'hypersensibilité | Réactions d'hypersensibilité et liées à la perfusion HTA Asthénie Diarrhée, douleurs abdominales Accidents thromboemboliques artériels Hémorragie pulmonaire | Cardiotoxique Diarrhée Troubles cutanés Pneumopathies | Altération cicatrisation des plaies Pneumopathie non infectieuse Troubles métaboliques |
| Bilan pré-thérapeutique | Bilan cardiaque (ne pas associer aux anthracyclines) | Bilan rénal | Bilan cardiaque | Bilan rénal, métabolique, numération de la formule sanguine |
| Femmes en âge de procréer | Utilisation d'une contraception efficace toute la durée du traitement + 7 mois après arrêt du traitement | | Utilisation d'une contraception efficace toute la durée du traitement + 5 jours après arrêt | Utilisation d'une contraception efficace toute la durée du traitement + 8 semaines après arrêt |

Hormonothérapie

Elle n'est indiquée qu'en cas de tumeur hormonosensible, c'est-à-dire exprimant au moins un des deux RH pris en compte dans le diagnostic.

Elle est prescrite pour une durée de 5 ans, parfois étendue jusqu'à 10 ans lorsqu'il existe une atteinte lymphonodale. Elle est validée en RCP en traitement adjuvant, après la chimiothérapie et la radiothérapie (si elles sont indiquées), ou en traitement néoadjuvant chez les patientes ménopausées, RH+ avant chirurgie.

Chez une femme âgée, avec une tumeur RH+ d'évolution lente, une hormonothérapie exclusive peut être décidée.

La stratégie thérapeutique est différente selon l'âge de la patiente et son statut ménopausique, comme décrit dans le tableau ci-dessous.

Tableau 20 : Stratégies thérapeutiques de l'hormonothérapie selon le statut ménopausique.

| Médicaments | Femme non ménopausée | Femme ménopausée | Bilan pré-thérapeutique |
|---|--|--|--|
| Tamoxifène (Nolvadex®) | 20mg/j en 1 ou 2 prises pendant 5 ans Pour les femmes en âge de procréer, utilisation d'une contraception efficace et non estrogénique pendant toute la durée du traitement puis 2 mois après arrêt du traitement | - 2/3 ans en alternance avec un inhibiteur de l'aromatase pour une durée totale de traitement de 5 ans Ou - seul pendant 5 ans en cas de CI ou d'intolérance aux anti-aromatase Posologie : 20mg/j en 1 ou 2 prises | |
| Inhibiteurs de l'aromatase : anastrozole (Arimidex®) exémestane (Aromasine®) létrozole (Femara®) | Contre-indiqué | - Pendant 5 ans Ou - après le tamoxifène pour une durée totale de traitement de 5 ans minimum Anastrozole : 1mg en prise unique journalière Exemestane : 1 comprimé de 25mg, une fois/j, après un repas Létrozole : 2,5mg/j en prise unique | Ostéodensitométrie : évaluation de la densité minérale osseuse car risque d'ostéoporose Bilan métabolique, hépatique et rénal, dosage de la vitamine D Dosage LH, FSH, estradiol pour confirmer la ménopause |
| Analogue de la LH-RH : Goséréline Leuproréline | Discutée au cas par cas pour une durée de 3-5 ans, dans le traitement du cancer du sein métastatique hormonodépendant | Non indiqué | |

Tableau 21 : Médicaments utilisés dans l'hormonothérapie (109).

| | Tamoxifène | Inhibiteurs de l'aromatase |
|-------------------------------------|--|--|
| Mécanisme d'action | <p>Inhibition compétitive de la liaison de l'estradiol aux REs → agent antinéoplasique anti-estrogène inhibant ainsi la multiplication des cellules hormodépendantes</p> <p>Par ailleurs, il possède des effets estrogéniques sur certains tissus tels que l'endomètre et l'os.</p> | <p>Diminution de la biosynthèse des estrogènes par inhibition compétitive de la transformation de l'androstènedione en estrone dans les tissus</p> |
| Interactions médicamenteuses | <p>AVK : potentialisation par réduction de leur métabolisme, pouvant nécessiter une diminution de posologie (risque hémorragique)</p> <p>Agents cytotoxiques : risque d'augmentation d'accidents thrombo-emboliques</p> <p>Inhibiteurs du CYP2D6 : antagonisme par réduction du taux de métabolite actif</p> | <p>Médicaments contenant des estrogènes : effet antagoniste</p> <p>Médicaments inducteurs du CYP3A4 : diminution des effets par augmentation de leur métabolisme</p> |
| Contre-indications | <p>Grossesse</p> <p>Allaitement</p> <p>Hypersensibilité à un produit de la composition</p> | |

Ces médicaments présentent divers effets indésirables (EI), décrits dans le tableau en Annexe 14, avec des conseils pour les prévenir.

Le tamoxifène est un antagoniste pur de RE β et RE α . Mais des chercheurs ont observé que les tumeurs exprimant RE β 2 répondaient moins au traitement par rapport aux tumeurs exprimant RE β 1 ou RE α . De plus, l'expression de RE β 2 serait associée à une meilleure survie globale des patientes et à un risque moindre de rechute.

Une hypothèse fait alors surface concernant les patientes avec une tumeur RE α -positive et ne répondant pas aux attentes du traitement par tamoxifène : les effets antitumoraux obtenus par blocage du RE α pourraient être diminués par le blocage conjoint de RE β 2, entraînant une inhibition de ses effets inhibiteurs sur la croissance cellulaire (105).

Une autre étude réalisée sur des cellules cancéreuses du sein MDA-MB-231 RE α -négatives, puis sur des modèles animaux, a constaté que la génistéine pouvait restaurer épigénétiquement l'expression du RE α par remodelage de la structure de la chromatine dans le promoteur du gène codant le RE α , contribuant à sa réactivation (110).

Pour en arriver à ces résultats, ils ont réalisé diverses expériences :

- Une expérience *in vitro* sur des cellules MDA-MB-231 RE α -négatives avec des injections de 25 μ M de génistéine pendant 3 jours, puis 1 μ M de tamoxifène pendant 2 jours.
- Une expérience *in vivo* sur des souris exposées via l'alimentation à 250mg/kg/jour de génistéine (comparable à des doses atteintes par une alimentation humaine riche en soja), qui ont reçu par injection des cellules cancéreuses MDA-MB-231. Deux semaines après l'exposition alimentaire, ces souris ont reçu une injection de 25mg de tamoxifène par jour pendant 3 semaines.
- Une expérience *in vivo* sur un modèle de souris transgénique développant spontanément des cancers du sein, avec un groupe exposé à 250mg/kg/jour de génistéine via leur alimentation, puis traité avec 25mg de tamoxifène par jour pendant 3 semaines dès que la tumeur a atteint environ 400 mm³.

À la suite de l'administration de génistéine, il a aussi été remarqué une resensibilisation des réponses cellulaires RE α -dépendantes à l'agoniste 17 β E et l'antagoniste tamoxifène, améliorant son efficacité.

Ces résultats s'avèrent intéressants car ils révèlent une possible nouvelle approche thérapeutique des tumeurs RE α -négatives réfractaires aux traitements : la prise de génistéine, restaurant l'expression des RE α , augmenterait la sensibilité de la tumeur à l'effet thérapeutique du tamoxifène.

Evidemment ces résultats nécessitent de plus amples recherches pour renforcer cette hypothèse et en évaluer la fiabilité avant l'administration à l'Homme.

D'un autre côté, une autre équipe de chercheur a voulu étudier l'effet d'une prise conjointe de génistéine et de tamoxifène sur la croissance de la lignée cellulaire cancéreuse MCF-7 implantée chez des souris athymiques ovariectomisées (111).

Ils ont alors observé que la génistéine, à des doses allant de 10 à 100 μ mol/L :

- annulait l'effet inhibiteur du tamoxifène sur la croissance tumorale des cellules MCF-7 exprimant RE α ;
- entraînait une diminution de la concentration plasmatique d'estradiol endogène ;
- et augmentait l'expression de gènes sensibles aux estrogènes.

En général, à la suite d'un repas contenant du soja, la concentration plasmatique humaine peut atteindre 0,1 à 3 μ mol/L. Cette concentration est en dessous de celle utilisée dans les expériences, mais nous pouvons imaginer des concentrations sériques humaines bien supérieures chez les femmes consommant des compléments alimentaires hautement dosés en isoflavones de soja.

Les observations sur la relation génistéine-tamoxifène (arsenal thérapeutique largement utilisé) étant contradictoires, il semble préférable, au vu de ces dernières études, d'éviter de consommer des isoflavones de soja et principalement la génistéine, lorsque les femmes sont ménopausées, atteintes d'un cancer du sein hormono-dépendant et/ou sous traitement par tamoxifène.

Cette recommandation est d'autant plus importante que le GPER aurait un rôle primordial dans la médiation cellulaire physiologique et pathologique au niveau de la glande mammaire. Malgré cela, il est tout de même oublié dans l'histoire de la pathologie et donc dans le choix du traitement. Le tamoxifène étant un agoniste de GPER, sa prise en compte pourrait orienter les futures prises en charge du cancer du sein.

j) Surveillance

Elle comporte :

- Une prise en charge conjointe par : chirurgien, oncologue médical, radiothérapeute, médecin généraliste et/ou gynécologue ;
- Examen clinique biannuel les 5 premières années puis annuel accompagné d'une mammographie, plus une échographie si nécessaire ;
- Surveillance de la tolérance de l'hormonothérapie en raison de ses effets secondaires ;
- Ostéodensitométrie et pré- et post-traitement par hormonothérapie.

3. Effets des phyto-estrogènes sur la cancérogénèse et la croissance tumorale

a) Mécanismes d'action

A dose alimentaire, *in vitro* et sur les modèles animaux, les isoflavones ont une action estrogénique et proliférative sur les cellules RE-positives.

Plus précisément (14) :

- Les isoflavones entraînent la prolifération des cellules RE α -positives.
- Les isoflavones ont une action anti-oestrogénique et antiproliférative sur les cellules RE β -positives et n'exprimant pas RE α .
- Les isoflavones ont une forte affinité pour GPER (10 fois inférieure à celle de 17 β E seulement) et activent la transcription des gènes via ce récepteur dès 0,1 μ M.

Les effets des isoflavones sont donc différents selon le récepteur activé.

Comme nous l'avons vu précédemment, les isoflavones peuvent avoir des effets positifs tels que la prévention de la cancérogénèse via des modifications épigénétiques, non encore élucidées.

En effet, la génistéine inhiberait l'ADN méthyltransférase dans des lignées de cellules cancéreuses (étude *in vitro* et *in vivo* sur modèles animaux) (32).

Mais cet effet n'est observé qu'à des doses pharmacologiques (50 ou 100 μM), qui peuvent être atteintes par exemple via une injection directement dans une tumeur.

A dose alimentaire, il est observé une méthylation des gènes. L'hypothèse explorée aujourd'hui serait donc la possible sous-expression de pro-oncogènes, plutôt qu'une surexpression de gènes suppresseurs de tumeur due à une inhibition de la méthylation, qui n'est observée que dans des études *in vitro* avec des doses pharmacologiques inatteignables par l'alimentation.

Une autre étude *in vitro* ajoute à l'hypothèse précédente une action de déméthylation et d'acétylation d'histones entraînant la non-expression de gènes impliqués dans la cancérogénèse (112). Mais ces effets se sont avérés aspécifiques et touchent donc tous les types de gènes.

Autre fait *in vitro* : sur des cellules cancéreuses de tumeur triple négative, la génistéine inhiberait la prolifération cellulaire et déclencherait l'apoptose cellulaire en inhibant la voie NF-kB (voie de régulation de la transcription de nombreux gènes impliqués dans la prolifération, différenciation et apoptose cellulaire). Cette inhibition entraîne la régulation négative de la production de la protéine anti-apoptotique BCL-2, et l'inhibition de la voie MEK5/ERK5/NF-kB, inhibant la prolifération cellulaire et activant l'apoptose (33).

Cependant, cette observation n'est significative qu'à partir de 50 μM , doses pharmacologiques, alors que les doses circulantes atteintes via l'alimentation sont au maximum de 0,5 μM en ne prenant en compte que les composés non conjugués et donc potentiellement actifs.

Via ces divers mécanismes, la génistéine serait protectrice envers les processus de tumorigénèse et cancérogénèse. Tout ceci doit être vérifié *in vivo*, chez l'Homme si possible, car comme nous l'avons dit précédemment, les effets observés *in vitro* peuvent parfois être loin de la réalité *in vivo*.

Möller et al. (113) ont donc décidé d'explorer si l'exposition nutritionnelle aux isoflavones de soja, de la conception à l'âge adulte, a des répercussions sur la cancérogénèse induite par l'estradiol sur la glande mammaire du rat. Pour ce faire, ils ont exposé des rats aux isoflavones de soja via leur alimentation, de leur conception jusqu'à 285 PND. De l'estradiol a été utilisé pour induire une tumorigénèse de la glande mammaire dans les deux groupes de rats, les exposés aux isoflavones et les rats contrôles.

Il en ressort de cette étude que :

- Dans le groupe exposé, le délai d'apparition des tumeurs est de 20 semaines, contre 25 semaines en moyenne dans le groupe témoin,
- Les tumeurs sont plus importantes chez les rats exposés,
- L'incidence des tumeurs est plus faible dans le groupe exposé.

Ces résultats indiquent que les isoflavones exerceraient une protection en phase initiale de la tumorigénèse, mais lorsque la tumeur est établie, ils activent la prolifération des cellules cancéreuses.

Néanmoins, ces possibles effets positifs sont entachés de doutes et d'incertitudes car ils sont accompagnés de possibles effets négatifs sur notre santé. Cette fragile balance est dépendante de la concentration en isoflavones et de la concentration en estrogènes endogènes comme nous l'avons vu précédemment.

Détaillons ces effets potentiellement négatifs des isoflavones :

1. Via les RE α , pouvant être exprimés par les cellules cancéreuses, il y a un risque d'activation de la prolifération cellulaire lorsque ce récepteur est activé par un ligand tel que les isoflavones. Une isoforme de RE α est exprimée par les cellules cancéreuses de la lignée MCF-7, induisant la prolifération des cellules cancéreuses mammaires (22,33).

Chez des souris athymiques avec des cellules MCF-7 (lignée de cellules cancéreuses retrouvée dans certains cancers du sein, exprimant RE α , parfois RE β) implantées, il est observé (14) :

- Une prolifération de cette lignée cellulaire suite à l'ingestion de soja ou d'isoflavones isolées ;
 - Un effet antagoniste des isoflavones envers les effets des anti-aromatase et du tamoxifène, car ils entrent en compétition avec ces derniers au niveau de la liaison aux REs. Ces données *in vivo* mettent en jeu des formes conjuguées qui circulent à doses physiologiques après ingestion de soja.
2. Les REs membranaires peuvent avoir une relation croisée avec le récepteur au facteur de croissance insuline-like 1 (IGF-1), entraînant la prolifération des cellules cancéreuses. La génistéine augmente la transcription du gène codant le récepteur au IGF-1 via un mécanisme dépendant de l'IGF-1. Ce dernier peut être déclenché à de très faibles concentrations de génistéine : 0,5-10 μmol , et favorise la prolifération des cellules cancéreuses (14). Il est d'ailleurs possible que ces effets soient aussi dépendants du GPER, comme schématisé dans la figure 8.
 3. Le GPER peut être exprimé par les cellules cancéreuses des tumeurs hormonodépendantes, des tumeurs RE-négatives mais aussi triples négatives. Ses ligands peuvent être les phyto-estrogènes, la 17 β E et aussi le tamoxifène ou le fulvestrant (Faslodex[®]) (14).

Principalement dans les tumeurs RE-négatives et HER2 + exprimant le GPER, la liaison d'estrogènes (endogènes ou exogènes) au GPER activent, via la stimulation de seconds messagers, la voie de signalisation impliquant l'*Epidermal Growth Factor* (EGFR, facteur de croissance épidermique) et son récepteur à l'origine d'une prolifération cellulaire, pouvant donc être délétère dans le cadre d'un processus de tumorigénèse (114).

Les cellules cancéreuses triple négatives surexpriment souvent le GPER et EGFR. Ce récepteur, activé par des estrogènes endogènes ou exogènes, peut donc possiblement stimuler la croissance cellulaire. Une diminution de l'expression du GPER pourrait donc constituer une nouvelle approche thérapeutique pour les patientes présentant un cancer du sein surexprimant le GPER, qui est aujourd'hui associé à un risque de progression tumorale (25).

Le fulvestrant, arsenal thérapeutique de 2^{ème} intention, surtout utilisé dans les cancers du sein métastatiques, est un antagoniste compétitif des RE α , prévenant leur translocation nucléaire et ainsi empêcher la prolifération cellulaire. Mais cet effet thérapeutique peut être contrecarré par l'activation du GPER dont il est agoniste et stimuler la prolifération cellulaire. Il est ainsi possible d'être confronté à une résistance au traitement par Faslodex[®] (25).

Les anti-aromatases ne sont pas non plus épargnés par les actions médiées par le GPER. En effet, la stimulation du GPER entraîne un rétrocontrôle positif sur l'expression de l'aromatase, pouvant ainsi diminuer l'efficacité des médicaments par diminution de leur cible thérapeutique, ceci étant un réel problème pour les cancers résistants au tamoxifène. Les possibilités de traitement de ces cancers résistants sont fortement réduites (25).

De plus, il a aussi été observé dans certaines lignées cellulaires cancéreuses qu'une activation du GPER entraînait une diminution de l'expression du gène pro-apoptotique BCL2-like 11, favorisant la prolifération et la survie cellulaire chez les femmes de plus de 50 ans consommant depuis plusieurs années des compléments alimentaires contenant des isoflavones de soja (26).

Pour le moment, la seule isoflavone testée sur le GPER présent sur les cellules mammaires est la génistéine. D'autres études devraient être menées sur les autres isoflavones à activité estrogénique, afin d'avoir une vue d'ensemble sur l'impact de la consommation de soja et ses effets globaux via ce récepteur. Les conjugués (glucuronides et sulfates) devraient aussi être testés.

Le GPER est aussi exprimé dans de nombreux tissus : certaines régions du cerveau, le placenta, les ovaires, les testicules, la prostate, le cœur, le pancréas, les poumons, les muscles squelettiques, le colon, et les tissus vasculaires et lymphoïdes. Via ce récepteur, les phyto-estrogènes peuvent mimer les actions estrogéniques dans de nombreux tissus différents et les conséquences d'une activation inappropriée de ce récepteur et de ses voies de signalisation ne sont pas toutes connues (23). Il est donc nécessaire de mener des recherches approfondies sur les fonctions physiologiques du GPER dans un large éventail de tissus cibles sains et malins, afin de déterminer les effets biologiques et possiblement toxicologiques.

De plus l'expression de ce récepteur n'est pas recherchée lors de l'étude histologique réalisée à l'occasion du diagnostic de cancer du sein. Il serait probablement intéressant d'inclure sa recherche dans les analyses histologiques futures, sachant déjà que certains anti-estrogènes et les phyto-estrogènes peuvent avoir un impact sur tous les types de

tumeurs du cancer du sein via ce récepteur. Le GPER pourrait ainsi être une nouvelle cible thérapeutique pour les futures prises en charge des cancers du sein.

L'absence de GPER est associée à un meilleur pronostic chez les patientes atteintes de cancer du sein RE α -positif traitées par le tamoxifène.

4. Un autre récepteur pouvant être impliqué dans les effets estrogéniques médiés par les isoflavones est le RE α -36, forme tronquée du RE α , exprimé par les cellules cancéreuses du sein triple négatives et RE-négatives.

Des auteurs ont étudié le rôle de la signalisation estrogénique mitogène médiée par ce récepteur exprimé à des taux élevés au niveau membranaire et cytoplasmique, qui peut aussi être exprimé au niveau de la bicouche lipidique avec un site membranaire et un site intracytoplasmique, grâce à un site de palmytylation, dans des lignées cellulaires malignes du cancer du sein triple négatif, *in vitro* et *in vivo* sur des modèles de souris (115). Les résultats montrent que RE α -36 active la prolifération cellulaire via un effet estrogénique non génomique activant la voie de signalisation EGFR/Src/ERK. Cela suggère qu'il y aurait un sous-ensemble de tumeurs RE-négatives exprimant RE α -36. L'activation de ces voies agonistes par les isoflavones pourrait être contrebalancée par les effets antiprolifératifs susmentionnés.

Mais cette constatation est contradictoire avec le fait clinique que les tumeurs RE-négatives ne répondent pas à la thérapie anti-estrogénique.

Nous savons que le tamoxifène agit à la fois comme agoniste et antagoniste des REs. Il a été constaté sur des cellules cancéreuses RE-négatives de l'endomètre que le tamoxifène était agoniste du RE α -36. Ce qui suggère que les cellules RE-négatives exprimant RE α -36 conservent une réponse mitogène aux estrogènes participant à la prolifération et à la progression tumorale dans le tissu endométrial et mammaire (115).

Ces hypothèses nécessitent des études supplémentaires pour mieux comprendre ces voies de signalisation, leurs impacts et par extension, une détection de ces isoformes *in situ* au diagnostic permettrait de mieux traiter les patientes en leur proposant des traitements réellement personnalisés.

5. Autre découverte : la présence de récepteurs orphelins apparentés aux REs (EER α , ERR β , et EER γ) dans le compartiment nucléaire. Ils ne fixent pas la 17 β E car leur poche de liaison au substrat est beaucoup plus petite que celle des REs. Donc, leurs agonistes et antagonistes sont différents de ceux des REs. Le tamoxifène se lie à ERR β et EER γ sans entraîner d'activité transcriptionnelle. Le S-Eq se lie à EER γ et induit la transcription de gènes. La génistéine et la daidzéine entraînent des activités transcriptionnelles seulement via EER α et ERR β (14).

6. Le sein contient des cellules adipeuses fixant les isoflavones, principalement le S-Eq, métabolite bioactif de la daidzéine. Il est donc possible d'avoir un relargage dépendant de la concentration plasmatique circulante, pouvant se faire plusieurs jours après la

consommation des isoflavones et donc faire perdurer dans le temps les potentiels effets négatifs susmentionnés (14).

Cependant, toutes ces observations ont des limites et sont parfois difficilement transposables à l'Homme. Les études *in vitro* ou *in vivo* sur des animaux doivent être complétées d'études supplémentaires sur l'être humain, pour vérifier si ces résultats sont applicables à l'Homme et mieux comprendre ces modifications épigénétiques et leurs impacts sur notre santé.

b) Etudes cliniques

Aux Etats-Unis, une étude randomisée contrôlée par placebo a été publiée par Shike et al., et réalisée entre 2003 et 2007 avec des femmes atteintes d'un cancer du sein invasif devant subir une résection chirurgicale, quel que soit le statut T de la tumeur et son statut histologique (116).

Cette étude avait pour objectif d'évaluer les effets d'une supplémentation en soja sur les caractéristiques moléculaires du cancer du sein, incluant l'expression des gènes impliqués et leurs voies de signalisation.

La méthodologie qu'ils ont appliquée est la suivante :

- 140 femmes atteintes d'un cancer du sein invasif devant subir une résection chirurgicale ont été incluses et divisées en deux groupes par randomisation.
- Le groupe « traité » reçoit un supplément en protéines de soja dosé à 25,8 g deux fois par jour.
- Le groupe placebo prend du lait protéiné dosé à 25,8 g deux fois par jour.
- Cette consommation dure jusqu'à leur intervention chirurgicale et correspond en moyenne à une durée entre 7-30 jours (ce qui représente une très courte période).
- Les études histologiques ont été réalisées sur un morceau de la biopsie pratiquée lors de la chirurgie.

Ils ont observé qu'une concentration plasmatique élevée de génistéine est associée à une surexpression des gènes participant au cycle cellulaire et à la prolifération cellulaire.

Cette étude soulève une inquiétude : le soja à haute dose, même sur une courte période, peut modifier l'expression de gènes dans les cellules cancéreuses et entraîner des conséquences négatives chez les patientes.

De nos jours, aucune étude clinique n'a observé les effets des isoflavones chez des femmes avec une prolifération tumorale RE-positive sur le long terme, car aucun comité d'éthique ne l'autoriserait à cause du potentiel danger qu'encourraient les patientes intégrées au groupe supplémenté en soja. Les données que nous avons sont recueillies à partir d'études réalisées chez des femmes avec une hyperplasie bénigne et d'exams réalisés sur des échantillons de tissus sains.

Trois autres études basées sur la même méthodologie concordent au niveau des résultats (14):

- Administration de 45 à 60mg d'isoflavones via une alimentation à base de soja (dose commune sur le marché) ou via des compléments alimentaires.
- Traitement d'une durée de 2 semaines à 1 mois avant de réaliser une biopsie chez des femmes pré-ménopausées.
- Etude des effets estrogéniques des isoflavones sur du tissu sain du sein, sans préciser le moment du cycle ovarien des femmes.

Les observations ont été les suivantes :

- Sécrétion de liquide mammaire, production de protéines estrogène-dépendantes, comme la PS-2 et les récepteurs à la progestérone.
- Dans certains cas, une prolifération des cellules épithéliales mammaires a été constatée.

Nous pouvons conclure de ces études qu'une prise orale de 45 à 60mg d'isoflavones par jour entraîne des effets estrogéniques sur le tissu sain du sein.

Nous devons tout de même tenir compte qu'en préménopause, il y a toujours une production d'estrogènes endogènes, telle la $17\beta E$ et que l'hypothèse d'une synergie d'activité avec les isoflavones n'est pas à exclure. Ces résultats ne sont donc pas transposables aux femmes ménopausées et en post-ménopause.

c) [Etudes épidémiologiques : lien entre consommation de phyto-estrogènes et risque de cancer du sein](#)

Certains chercheurs ont tenté de mettre en évidence un lien entre la prise de phyto-estrogènes contenus dans le soja (via l'alimentation ou la prise de compléments alimentaires) et l'apparition ou l'aggravation du cancer du sein via des études épidémiologiques.

A noter que dans plusieurs études épidémiologiques, le stade du cancer du sein n'est pas mentionné pour les sujets étudiés, ce qui constitue un biais de confusion dans la lecture des résultats. De plus, le cycle de production de la $17\beta E$ chez les femmes pré-ménopausées peut être impacté par la consommation d'isoflavones. Suggérant ainsi l'existence d'une différence entre la phase de pré-ménopause où il y a production de $17\beta E$ via la stimulation hypophysaire et la phase de post-ménopause où les isoflavones à action estrogénique représentent la majorité des estrogènes dans le plasma.

Une méta-analyse d'études prospectives du risque relatif de cancer du sein avec la consommation de soja a mis en évidence l'existence d'une association inverse entre consommation d'isoflavones de soja et le risque d'incidence ou de récurrence de cancer du sein chez les femmes asiatiques et pas chez les femmes caucasiennes des pays occidentaux (117).

Certains éléments, en lien avec les habitudes alimentaires de chaque continent, pourraient expliquer cela :

- Dans les pays occidentaux, l'apport en isoflavones est relativement faible (moins de 5mg par jour).
- Une forte consommation d'isoflavones est principalement liée à l'apport de compléments alimentaires, qui survient tard dans la vie des femmes caucasiennes, en péri-ménopause, pendant la ménopause et post-ménopause.
- Dans les pays asiatiques, cet effet protecteur observé peut s'expliquer par une exposition plus précoce des femmes aux isoflavones, lorsque la glande mammaire est saine et sur de plus longues durées.

De plus, il a aussi été observé que cette association inverse était plus forte chez les femmes ménopausées que chez les femmes pré-ménopausées. Il faut donc tenir compte du statut ménopausique (et donc du statut hormonal), pouvant jouer un rôle sur la nature des effets exercés par les isoflavones.

Lee et al font part de résultats comparables dans leur étude réalisée sur des chinoises (118) :

- Une consommation dès l'adolescence de soja réduit le risque de cancer du sein en pré-ménopause.
- Aucune association significative n'a été mise en évidence entre la consommation de soja et le risque de cancer du sein en post-ménopause.

Dans les études où le statut des tumeurs concernant les REs est pris en compte, il apparaît que pour les tumeurs RE-négatives, les isoflavones auraient un léger effet protecteur, ce qui n'est pas le cas pour des tumeurs RE-positives (14). Certains auteurs évoquent un effet anti-oxydant, d'autres un renforcement immunitaire.

Dans les pays asiatiques, lorsque le soja est consommé modérément et régulièrement dans l'enfance, un effet protecteur est observé chez les femmes pré-ménopausées, qui présentent le plus souvent des tumeurs RE-négatives. Ce qui n'est pas le cas chez les femmes ménopausées (119).

Il a été observé dans une étude exposée dans l'article (29), une différence inter-individuelle et inter-populationnelle au niveau de la réponse aux effets estrogéniques des isoflavones.

En effet, rappelons que le S-Eq est produit par notre microbiote intestinal à partir de la daidzéine ingérée. Mais une faible proportion de la population (30-40%) pourrait produire du S-Eq, plus actif que son précurseur.

Cette variation inter-individuelle, liée aux bactéries intestinales présentes dans la flore, pourrait être une explication supplémentaire à la différence inter-individuelle de réponse aux phyto-estrogènes. Cette variation inter-individuelle au niveau de la production de S-Eq

est aussi observée entre les différentes populations, pouvant expliquer une différence d'incidence de cancer du sein selon les pays :

- 25-35% de la population américaine pourrait produire du S-Eq.
- 40-60% de la population asiatique pourrait produire du S-Eq.
- 60% des végétariens (similaire à la population japonaise en proportion) contre 25% chez les non végétariens adultes produiraient du S-Eq.
- Les consommateurs d'algues (principalement dans les pays asiatiques) seraient plus susceptibles de produire du S-Eq.

Cette grande variabilité de la production de S-Eq, probablement due à des différences inter-individuelles dans la composition de la microflore intestinale, peut jouer un rôle important dans les mécanismes d'action des isoflavones et en partie expliquer les faibles effets estrogéniques parfois retrouvés dans des études sur les populations européennes et américaines par rapport aux populations asiatiques.

Il n'est pas écarté aussi que les populations asiatiques aient un profil génétique différent des autres populations, consommant relativement récemment du soja, alors que les asiatiques ont déjà eu plus de 5000 ans pour développer leur capacité à préparer les aliments à base de soja, à les digérer et en extraire les nutriments. (29)

Mais d'autres hypothèses émergent. Une étude de biodisponibilité comparée entre les asiatiques et les occidentaux indiquerait que la différence ne serait peut-être pas génétique mais liée à une différence de flore intestinale globale. En effet, les asiatiques absorberaient moins bien les isoflavones que les occidentaux sur des prises répétées sur le long terme.

Mais seule l'absorption intestinale différencierait, les paramètres pharmacocinétiques reposant sur les enzymes endogènes mises en jeu ne différant pas (120).

Au-delà des facteurs génétiques ou de flore intestinale, les facteurs environnementaux, et particulièrement l'alimentation, jouent un rôle important dans cette différence de réponse aux phyto-estrogènes (29) :

- Il y a plus de femmes américano-asiatiques atteintes de cancer du sein que de femmes asiatiques, même si l'incidence de cancer est plus basse chez les américano-asiatiques que les américaines caucasiennes ;
- L'incidence de cancer du sein chez les femmes caucasiennes est supérieure par rapport aux femmes asiatiques (observation faite dans plusieurs études).

Les différences au niveau génétique, les différences de niveaux d'hormones endogènes et du métabolisme hormonal, des schémas de croissance, des régimes alimentaires et autres facteurs environnementaux entre les femmes asiatiques, les femmes américano-caucasiennes et afro-américaines et les femmes latinos, participent aux écarts constatés entre ces diverses populations sur le risque global de développer un cancer du sein.

Ces observations faites, la question clé aujourd'hui est de savoir quels sont les principaux facteurs contribuant à cet écart d'incidence du cancer du sein et comment les exploiter pour améliorer la situation des populations les plus à risque.

L'un de ces facteurs pourrait être la différence de concentrations endogènes d'estrogènes entre les femmes asiatiques, caucasiennes et afro-américaines, observée en phase de préménopause (29).

Touillaud et al ont réalisé une cohorte française comportant 76 442 femmes de plus de 50 ans (âge moyen de 59,5 ans), sans cancer au départ, pour analyser le lien entre le risque d'apparition de cancer du sein et la non-consommation, consommation actuelle ou passée de compléments alimentaires contenant des isoflavones de soja dosés entre 3,75-37,5mg. Un questionnaire de suivi était réalisé tous les 2-3 ans, et ces femmes ont été suivies pendant 11,2 ans en moyenne. Lors de cette étude, il y a eu la détection de 3 608 primo-cancers du sein (26).

Divers résultats ressortent de cette étude :

1. En comparaison avec des femmes n'ayant jamais consommé ce type de compléments alimentaires :
 - **Aucune association** n'a été mise en évidence entre la **consommation passée** d'isoflavones de soja et le **risque global de cancer du sein**, c'est-à-dire le risque de développer un cancer du sein, quel que soit le type.
 - **Aucune association** n'a été mise en évidence entre la **consommation actuelle** d'isoflavones de soja et le **risque global de cancer du sein**.

2. Lors de l'étude de la relation entre le **risque** d'apparition de cancer du sein, en tenant compte du type histologique de la tumeur, et la **consommation** de ces compléments alimentaires, nous observons :
 - Pour une consommation **actuelle** (comparée à une non-consommation) :
 - Observation d'un **risque moindre de cancer du sein RE-positif** (ce faible risque est statistiquement significatif chez les femmes sans antécédents familiaux et les femmes pré-ménopausées ou récemment ménopausées).
Ce résultat s'inscrit dans l'hypothèse où les isoflavones auraient une action anti-estrogénique ou estrogénique faible selon la concentration d'estrogènes endogènes.

 - **Risque plus élevé de cancer du sein RE-négatif**.
Ce résultat suggère une action biologique des isoflavones via d'autres voies que les REs. En effet, comme nous l'avons vu précédemment, les cellules cancéreuses ont d'autres récepteurs membranaires tels que les GPER pouvant jouer un rôle prépondérant dans la prolifération tumorale, y compris sur les cellules dites triples négatives.

- Cette association observée entre la consommation actuelle et le risque de développer un cancer du sein ne diffère pas entre les cancers du sein invasifs et les cancers du sein *in situ*.
3. Cependant, il y a une modification des effets dans deux cas :
- Pour les femmes ayant des antécédents familiaux de cancer du sein au 1^{er} degré
 - Pour les femmes ménopausées depuis plus de 5 ans (il faut donc prendre en compte le statut ménopausique combiné au temps depuis le début de la ménopause)
 - **L'association inverse** (« effet protecteur ») entre la consommation **actuelle** et le risque de cancer du sein **RE-positif** est **amoindri**.
 - **L'association positive** (« facteur aggravant ») entre la consommation **actuelle** et le risque de cancer du sein **RE- négatif** est **plus forte**.
 - Tout ceci par rapport aux femmes sans antécédents familiaux et aux femmes en pré-ménopause ou ménopausées depuis moins de 5 ans
4. Les facteurs suivants n'ont pas eu d'influence sur l'interaction de la consommation de compléments alimentaires contenant des isoflavones (actuelle, passée, ou jamais) et le risque de développer un cancer du sein :
- L'âge,
 - Fumeur ou non,
 - Antécédents personnels de pathologies bénignes du sein,
 - Traitement hormonal substitutif de la ménopause,
 - Post-ménopause et l'IMC,
 - Le niveau de consommation d'alcool,
 - L'apport diététique en lignane (autre phyto-estrogène présent dans le sésame ou le lin par exemple) mais ayant un effet antagoniste des isoflavones sur la prolifération des cellules RE+ (121).

Notons enfin que cette étude de cohorte française ne tient compte de l'apport d'isoflavones que par des compléments alimentaires. La prise de ce type de compléments alimentaires arrivant tard dans la vie d'une femme et ne tenant pas compte de l'apport possible d'isoflavones via l'alimentation, cela peut représenter un biais dans l'interprétation des résultats. En effet :

- Une femme classée dans « non-consommation » peut tout de même être sous l'influence des isoflavones par une alimentation contenant du soja : si les isoflavones exercent un effet protecteur vis-à-vis du développement du cancer du sein, ces femmes auraient un risque moindre d'en développer et cela pourrait expliquer l'observation d'une non-association entre consommation passée/actuelle et le risque global de développer un cancer du sein.
- Une femme consommant des compléments alimentaires et introduisant du soja dans son alimentation est exposée à des doses d'isoflavones supérieures à celles retenues (c'est à dire la dose contenue dans le complément alimentaire utilisé) : cela ne

modifie sûrement pas les résultats observés lors de cette étude mais peut avoir un impact sur les effets biologiques estrogéniques, protecteurs ou non.

Mais nous pouvons tout de même en tirer une conclusion : par principe de précaution, les femmes ayant des antécédents personnels, familiaux et autres risques élevés de cancer du sein ne doivent pas consommer de compléments alimentaires contenant des isoflavones. Cette recommandation avait été donnée par l'AFSSA dès 2005 mais elle fait l'objet de controverses notamment animées par les industriels du soja.

L'exposition à des phyto-estrogènes (telles que les isoflavones contenus dans le soja), via l'alimentation ou les compléments alimentaires, n'est pas prise en compte dans les facteurs de risque hormonaux et dans l'interrogatoire clinique du dépistage de cancer du sein. Même si beaucoup de questions au sujet de leurs impacts sur notre santé restent sans réponse, nous savons tout de même qu'ils sont bioactifs et peuvent avoir des effets estrogéniques et par conséquent, influencer les risques d'apparition ou d'aggravation du cancer du sein.

En 2002, la Haute Autorité de Santé (HAS) recommandait de déconseiller le soja chez des femmes traitées pour un cancer du sein. Compte tenu des éléments que nous possédons à ce jour, cette recommandation doit toujours être suivie.

V. Ménopause

1. Définition

La ménopause est désignée par l'arrêt définit des règles (appelé aménorrhée). Le diagnostic de ménopause est rétrospectif devant la constatation d'une aménorrhée d'une durée de minimum 12 mois.

Elle survient en moyenne à 51 ans et est précédée d'une phase dite de pré-ménopause caractérisée par une irrégularité des cycles, d'abord raccourcis (dus à une dysovulation) puis allongés (dus à l'anovulation, témoin de l'épuisement folliculaire). Cette phase peut apparaître environ 5 ans avant l'aménorrhée définitive (102).

Biologiquement, la ménopause se caractérise par une diminution de l'estradiol plasmatique (due à l'arrêt de sa production ovarienne), associée à une augmentation des gonadotrophines, en particulier la FSH, par perte du rétrocontrôle négatif de l'estradiol sur l'axe hypothalamo-hypophysaire (102).

Le taux d'estradiol plasmatique chez la femme non ménopausée se situe entre 147 et 1 468 pmol/L, et diminue pour atteindre moins de 73 pmol/L après la ménopause. Une faible production d'estrogènes est maintenue, principalement dans le tissu adipeux ayant l'aromatase, à partir des androgènes produits par les ovaires (122).

Les principaux signes cliniques de cette carence estrogénique, caractérisant le syndrome climatérique, sont (102) :

- les bouffées de chaleur vasomotrices, traduisant un désordre au niveau des neurotransmetteurs cérébraux dont la sécrétion est normalement régulée par les estrogènes ;
- des sueurs nocturnes, accompagnant souvent les bouffées de chaleur ;
- une sécheresse vaginale ;
- dans une moindre mesure : troubles du sommeil, troubles de l'humeur, céphalées, arthralgies, troubles de la libido, redistribution de la masse corporelle.

Ces manifestations sont très variables d'une femme à une autre, dans leur fréquence, leur intensité, dans les moments d'apparition et leur durée.

Les principaux risques à long terme de la ménopause sont :

- L'ostéoporose post-ménopausique. La déminéralisation osseuse est un phénomène physiologique lié au vieillissement, mais dont le processus s'accélère à la ménopause. La perte osseuse est de 1 à 2% par an lors de la ménopause, contre 0,3% à 30 ans. Elle expose à un risque accru de fracture, et constitue un réel problème de santé publique. Elle atteint 1 femme ménopausée sur 4 et se manifeste en moyenne 7 à 10 ans après l'aménorrhée ;
- L'athérosclérose coronarienne. En effet, avant la ménopause, les maladies coronariennes sont beaucoup plus fréquentes chez l'homme. Après la ménopause, la fréquence des coronaropathies féminines rejoint progressivement celle des hommes (102).

L'espérance de vie des femmes de nos jours est de 85 ans. Une femme vivra donc environ un tiers de sa vie en ménopause. Il est donc important d'en apprécier les manifestations, leurs retentissements sur la qualité de vie des femmes et les solutions que nous avons pour en prévenir et/ou améliorer les conséquences.

2. Traitements hormonaux de la ménopause

La prise en charge de la ménopause est fondée sur le THM, ainsi que des traitements symptomatiques non hormonaux, et des règles hygiéno-diététiques.

Aujourd'hui, 15-20% des femmes prennent un THM, mais 50% d'entre elles abandonnent dans les 2 ans.

Le THM est aujourd'hui proposé aux femmes présentant un syndrome climatérique, après évaluation de la balance bénéfique/risque et vérification de l'absence de contre-indications. L'objectif du traitement est d'éviter les effets secondaires de la carence estrogénique.

Tableau 22 : Indications et contre-indications des THM (102,109).

| Indications | Contre-indications (CI) |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none">- Traitement hormonal substitutif des symptômes de déficit en estrogènes chez les femmes ménopausées - Prévention de l'ostéoporose post-ménopausique chez les femmes ayant un risque accru de fractures ostéoporotique et présentant une intolérance ou une CI aux traitements indiqués dans la prévention de l'ostéoporose | <ul style="list-style-type: none">- Cancer du sein (actuel et antécédent personnel)- Antécédent personnel de pathologie thrombotique artérielle (accident vasculaire cérébral, infarctus du myocarde) et de pathologie thromboembolique veineuse (antécédent de phlébite profonde inexplicée, d'embolie pulmonaire, d'accidents emboligènes inexplicés)- Lupus, tumeur hypophysaire, affections hépatiques graves et évolutives, hyperlipidémies sévères, hypertension artérielle grave- CI relatives : pathologies pelviennes, mastopathies bénignes à risque, facteurs de risques cardiovasculaires |

Le THM associe un estrogène naturel (estradiol ou valérate d'estradiol) afin de compenser sa diminution plasmatique responsable des symptômes et un progestatif afin de contrôler le risque de cancer de l'endomètre lié à une exposition prolongée aux estrogènes seuls.

La durée optimale du traitement n'est pas établie. Elle doit dépendre des objectifs et de la balance bénéfique/risque liés à la patiente, qu'il est recommandé d'évaluer annuellement.

Cependant, une durée maximale de traitement de 10 ans ne doit pas être dépassée, auquel cas les risques liés au THM (cancers hormonodépendants, risques cardiovasculaires, risque thromboembolique veineux) se voient augmentés (102). La HAS propose en 2004 un maintien du remboursement des THM dans le cadre de leurs indications. Elle recommande cependant l'utilisation de doses minimales et une durée de traitement limitée, car les risques connus de ces traitements se confirment et augmentent avec la durée d'exposition (123).

a) Principales molécules d'estrogènes utilisées

Tableau 23 : Estrogènes utilisés et leur voie d'administration (102).

| Voie d'administration | Molécule | Noms des spécialités thérapeutiques |
|----------------------------|----------------------|--|
| Voie orale | 17βE | Estrofem [®] , Oromone [®] , Provames [®] |
| | Estriol | Physiogine [®] |
| | Valérate d'estradiol | Progynova [®] |
| Voie transdermique (patch) | 17βE | Dermostril [®] , Oesclim [®] , Thaïs [®] , Estrapatch [®] , Femsept [®] , Vivelledot [®] |
| Voie percutanée (gel) | 17βE | Oestrodose [®] , Estréva [®] , Delidose [®] |
| Voie vaginale | 17βE | Estring [®] |
| | Estriol | Blissel [®] (gel), Gydrelle [®] (crème), Physiogine [®] (crème et ovule), Trophicrème [®] , Trophigil [®] (gélule vaginale) |

Les doses d'estrogènes ayant fait leur preuve sur la prévention de l'ostéoporose, et préconisées par l'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) sont (102) :

- de 1 à 2 mg/jour per os ;
- ou de 25 à 50µg par voie transdermique.

b) Molécules progestatives

Tableau 24 : Progestatifs utilisés au cours du THM et leur voie d'administration (102).

| Voie d'administration | Molécule | Noms des spécialités thérapeutiques |
|----------------------------|--|--|
| Voie orale | Progestérone | Progestan [®] , Utrogestan [®] , Estima [®] |
| | Progestatifs de synthèse (pouvant être utilisés en monothérapie) | Dydrogestérone (Duphaston [®]) Médrogestone (Colprone [®]) Chlormadinone acétate (Lutéran [®]) Nomégestrol acétate (Lutényl [®]) Promégestone (Surgestone [®]) |
| | Progestatif de synthèse associé à l'estradiol | Dydrogestérone (Climaston [®]) Acétate de noréthistérone (Kliogest [®] , Novofemme [®] , Trisequens [®] , Activevella [®]) Drospirénone (Angeliq [®]) Diénogest (Climodiene [®]) Cyprotérone acétate (Climène [®]) Médroxyprogestérone acétate (Divina [®] , Duova [®]) |
| Voie transdermique (patch) | Progestatif de synthèse en association à l'estradiol | Lévonorgestrel (Femseptcombi [®]) |

c) Principales complications

Deux risques principaux sont à prendre en compte lors d'une thérapie par THM (102) :

- le risque de maladies thromboemboliques veineuses est multiplié par 2 à 4 lors de la prise d'estrogènes par voie orale. Il est cependant diminué lorsque les estrogènes sont administrés par voie extra-orale ;
- le risque de cancers hormonodépendants augmente après 5 ans de traitement et est d'autant plus important que les femmes sont âgées.

Sachant qu'une estrogénothérapie peut aggraver l'évolution d'un cancer du sein déjà présent, il est important de faire une mammographie avant tout début de traitement.

Une hyperplasie de l'endomètre, voire un cancer de l'endomètre, est favorisée par une imprégnation estrogénique isolée et persistante. L'adjonction d'un progestatif, au moins 12 jours par mois, permet de contrôler le surrisque lié au traitement estrogénique.

3. Traitements non hormonaux

En ce qui concerne les symptômes locaux, tels que la sécheresse vaginale, des hydratants (Replens®) ou lubrifiants (Sensilube®) vaginaux sans hormone sont proposés pour en réduire les symptômes.

Pour les bouffées de chaleur, l'effet placebo améliorerait les symptômes dans 50% des cas. La β -Alanine (Abufène®), la vitamine E, la gabapentine, ou encore des inhibiteurs de la recapture de la noradrénaline et de la sérotonine (comme la venlafaxine), ou des inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (comme la paroxétine), se voient conseillés/prescrits par certains médecins (102,124).

Les règles hygiéno-diététiques conseillées aux femmes aujourd'hui comprennent (102):

- Une activité physique régulière (30 à 45 minutes/jour de marche rapide par exemple) pour prévenir les risques cardiovasculaires et osseux ;
- Un régime alimentaire pauvre en graisse, enrichi en calcium (1,2 à 1,5 mg/jour) et en vitamine D.

En revanche, aucune indication vis-à-vis d'une alimentation riche en phyto-estrogènes (via le soja, mais encore le kudzu, les cacahuètes, les haricots) n'est donnée, que ce soit pour en indiquer de potentiels bienfaits ou de potentiels risques.

4. Compléments alimentaires

Les femmes demandant une aide médicale sont estimées être en minorité (environ 25% dans les pays occidentaux). Les traitements locaux sur ordonnance sont donc faiblement prescrits (122). Certaines réticences peuvent être culturelles, ou dues à la publicité négative des THM faite depuis quelques années, poussant certaines femmes à se tourner vers des compléments alimentaires ou des alternatives naturelles pour soulager leurs symptômes.

Malgré leurs risques, les THM sont toujours prescrits et représentent un soulagement pour certaines femmes ménopausées. Nous pouvons donc imaginer qu'il en serait de même pour les isoflavones de soja à activité estrogénique. Mais comme nous l'avons vu précédemment, les phyto-estrogènes ne sont pas sans innocuité pour la santé. Il est donc important de comprendre leur fonctionnement et d'avoir du recul sur les répercussions bénéfiques, mais aussi négatives de ces agents bioactifs sur la santé des femmes ménopausées, pour permettre une prise en charge qualitative, personnelle et sécuritaire.

Tableau 25 : Liste non exhaustive de compléments alimentaires à base d'isoflavones de soja présentés comme remède aux maux de la ménopause. (109)

| Nom (laboratoire) | Dosage en isoflavones de soja (pour une gélule si non précisé) |
|--|--|
| Biopause (Laboratoire Monin-Chanteaud) | 150mg de germe de soja non OGM |
| Phyto Soya Ménopause (Arkopharma) | Pour 2 gélules : 70mg d'isoflavones glycosides et 44mg d'isoflavones aglycones |
| Phyto Soya Isoflavones de soja (Arkopharma) | Pour 2 gélules : 35mg d'isoflavones dont 17mg de daidzéine et 22mg sous forme aglycone |
| Isoflavone 60 (Be-Life) | Daidzéine : 18,75mg Génistéine : 6,25mg |
| Gydrelle Phyto Fort (PradSanté) | 90mg d'isoflavones de soja non OGM (58mg d'aglycones) |
| Sojyam (Nutreov) | 60mg d'isoflavones |

De nombreux compléments alimentaires sont disponibles et délivrés en officine en promettant de diminuer les effets liés à la ménopause, mais est-ce réellement le cas ?

Ces compléments alimentaires composés de phyto-estrogènes sont-ils réellement efficaces et sûrs ? C'est la question à laquelle des auteurs ont voulu répondre, et leurs principaux résultats sont exposés ci-après.

5. Les bouffées de chaleurs

a) Etudes cliniques

Crisafulli et al ont mené une étude clinique randomisée en double aveugle en incluant des femmes en post-ménopause pour évaluer les effets de la génistéine sur la fréquence des bouffées de chaleur (125).

90 femmes de 47 à 57 ans ont été divisées en trois groupes :

- Un groupe exposé à 54mg/jour de génistéine ;
- Un groupe prenant un THM composé de 1 mg d'estradiol + 0,5 mg d'acétate de noréthisthérone par jour ;
- Un groupe placebo.

Toutes les participantes ont reçu des instructions diététiques dans le cadre d'un régime iso-calorique à teneur réduite en graisses. La consommation de produits à base de soja, de légumineuses ou d'autres compléments alimentaires était interdite. Ces consignes ont pour but d'éviter les biais d'exposition, mais ne reflètent pas l'utilisation quotidienne des compléments alimentaires contre la ménopause chez les femmes symptomatiques.

Leurs résultats sont :

- Pour le groupe exposé à la génistéine par rapport au placebo : une réduction significative de 22% de la fréquence quotidienne des bouffées de chaleur à 3 mois de traitement, de 29% à 6 mois et de 24% à 24 mois ;
- Pour le groupe prenant le THM par rapport au placebo : une réduction significative de la fréquence des bouffées de chaleur de 53% à 3 mois, de 56% à 6 mois et de 54% à 12 mois.

Lors de cette étude, aucun EI n'a été rapporté par les patientes. Les auteurs ont conclu à une efficacité des phyto-estrogènes dans la réduction de la fréquence des bouffées de chaleur chez les femmes post-ménopausées, même si les résultats sont bien moindres que le THM.

Carmignani et al ont aussi réalisé une étude clinique randomisée en double aveugle sur 16 semaines, incluant des femmes post-ménopausées divisées en trois groupes de 20 personnes (126) :

- Un groupe exposé à 90 mg d'isoflavones ;
- Un groupe traité par 1 mg d'estradiol + 0,5 mg d'acétate de noréthistérone par jour ;
- Un groupe placebo.

Ils ont évalué les effets des isoflavones sur les symptômes de la ménopause en utilisant le *Menopause Rating Scale* (MRS). L'échelle MRS est un questionnaire tenant compte de 11 symptômes de la ménopause (bouffées de chaleur, paresthésie, insomnie, irritabilité, mélancolie, arthralgie, myalgie, migraine, palpitations, vertige et faiblesse/fatigue) cotés de 0 à 4 selon leur sévérité (0 : pas de symptôme, 4 : symptôme sévère).

Les résultats sont, par comparaison avec le placebo :

- Une réduction de 49,8% du MRS pour le groupe traité avec le THM ;
- Une réduction de 45,6% de MRS pour le groupe traité avec les isoflavones.

Cette réduction n'est significative que pour les bouffées de chaleur et les douleurs musculaires.

b) Méta-analyses

Diverses méta-analyses ont été réalisées dans l'objectif de comparer et clarifier les résultats obtenus dans des études cliniques sur les effets des isoflavones de soja sur les bouffées de chaleur.

Li et al ont sélectionné des études cliniques comparant la prise d'isoflavones de soja à la prise d'estradiol et de placebo pour évaluer l'efficacité des phyto-estrogènes dans la prise en charge des bouffées de chaleur lors de la ménopause (127).

Les études sélectionnées se basent sur le ressenti qualitatif des bouffées de chaleur des femmes incluses.

Les résultats de cette méta-analyse sont :

- Pour atteindre une réduction de la fréquence des bouffées de chaleur de 50%, les isoflavones de soja nécessitent 13,4 semaines de traitement en moyenne, contre 3,09 semaines de traitement pour l'estradiol ;
- Après 12 semaines de traitement, les femmes traitées par l'estradiol rapportent une réduction de la fréquence des bouffées de chaleur de 80%, contre 47% pour le groupe traité par les isoflavones de soja ;
- Une réduction de la fréquence des bouffées de chaleur de 80% n'est observée qu'au bout de 48 semaines de traitement par les isoflavones.

Il y a donc une différence significative d'efficacité entre l'estradiol et les isoflavones, et une différence significative entre les isoflavones et le placebo.

Cependant, de nombreux biais sont soulevés dans cette méta-analyse :

- Tout d'abord, l'hétérogénéité des préparations à base de soja est pointée du doigt. En effet, les doses d'isoflavones allaient de 30 à 200mg/jour, avec des quantités non homogènes de composés actifs (génistéine, daidzéine et glycitéine). Il y a ainsi un biais d'exposition et donc de méthodologie car tous les résultats des études sélectionnées ne sont pas comparables ;
- Les grandes variations observées entre les résultats des diverses études peuvent donc être dues aux différences d'exposition concernant la dose et le type d'isoflavone utilisé.

Malgré cela, les auteurs ont conclu que les isoflavones de soja avaient des effets faibles et lents sur la diminution de la fréquence d'apparition des bouffées de chaleur chez les femmes ménopausées, car tous les résultats analysés étaient significatifs comparés au placebo.

Chen et al ont sélectionné pour leur méta-analyse sept études utilisant l'index de Kupperman (KI), et dix études sur la fréquence des bouffées de chaleur (128).

Le KI est un index prenant en compte 11 symptômes de la ménopause (les mêmes que le MRS) classés de 0 à 3 par les femmes selon leur sévérité (0 : pas de symptôme et 3 : symptôme sévère). Le score maximal est de 51.

Pour les sept études analysant le KI :

- Les doses d'isoflavones administrées sont très hétérogènes (de 25mg/jour à 100mg/jour), de même pour la durée d'exposition allant de 3 mois à 6 moi ;

- Quatre études indiquent une réduction non significative du KI chez les femmes exposées aux phyto-estrogènes par rapport au placebo ;
- Trois études indiquent une diminution significative du KI suite à la prise d'isoflavones par rapport au placebo.

Au vu de l'hétérogénéité des méthodes d'étude, les auteurs de cette méta-analyse ont conclu à une diminution non significative du KI suite à une exposition aux phyto-estrogènes par rapport au placebo.

Concernant les dix études sur la fréquence des bouffées de chaleur :

- Les doses d'isoflavones administrées (de 36mg/jour à 100mg/jour), ainsi que les durées d'exposition sont aussi hétérogènes (de 3 à 12 mois) ;
- Quatre études rapportent des effets significatifs des phyto-estrogènes sur la réduction de la fréquence des bouffées de chaleur par rapport au placebo et six études ne concluent pas à des effets significatifs.

Malgré l'hétérogénéité de méthodologie, les auteurs ont estimé que leurs résultats étaient tout de même comparables car les critères d'inclusion des patientes et les mesures des résultats étaient similaires. Ils ont donc conclu à une réduction significative de la fréquence des bouffées de chaleur suite à une exposition aux phyto-estrogènes par rapport au placebo.

Au vu des résultats contradictoires entre les différentes études, des groupes d'experts, comme le *Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA)* de l'*European Food Safety Authority (EFSA)* sont sollicités pour rendre des opinions scientifiques, en l'occurrence sur la justification des allégations de santé relatives aux isoflavones de soja et la réduction des symptômes vasomoteurs tels que les bouffées de chaleur (129).

Dans leur dossier, le NDA souligne que :

- Les preuves fournies par les 15 études interventionnelles humaines analysées sont incohérentes en ce qui concerne un effet des isoflavones de soja sur la diminution des symptômes vasomoteurs ;
- Il a été tenu compte du fait que la plupart de ces études présentent un risque élevé de biais et que la présence de certains résultats incohérents ne pouvait être expliquée ni par la dose d'isoflavones utilisée, ni par la taille de l'échantillon, la durée de l'étude ou encore la fréquence ou la gravité des symptômes.

En effet, certaines études rapportent des effets significatifs avec des doses journalières de 27 à 100mg d'isoflavones pendant 3 à 12 mois de traitement, alors que des doses allant de 40 à 120mg/jour pendant 6 semaines à 6 mois ne rapportent pas d'effets pour d'autres auteurs.

Sur la base des données qui lui étaient présentées, le NDA conclut que les preuves fournies sont insuffisantes pour établir une relation de cause à effet entre la consommation d'isoflavones de soja et la réduction des symptômes vasomoteurs associés à la ménopause.

Une méta-analyse d'études cliniques réalisée par Rietjens et al rejoint les conclusions du NDA (29). En effet, les auteurs concluent que certaines études ont fait état non seulement d'une réduction de la fréquence et de la gravité des bouffées de chaleur, mais également d'une absence de preuve concluante pour affirmer une telle indication.

6. La densité osseuse

Les ostéoblastes sont chargés de la synthèse et de la minéralisation de la matrice osseuse (130). Les ostéoclastes sont responsables de la résorption osseuse (131).

Avant la ménopause, les estrogènes freinent la sécrétion osseuse de cytokines. Lors d'une carence estrogénique, ces cytokines sont responsables de l'activation des ostéoclastes et donc d'une augmentation des surfaces de résorption osseuse. Ce fait constitue un facteur majeur de l'ostéoporose, pouvant entraîner une diminution de la qualité de vie et une mort prématurée (102,131).

Certains traitements tels que les bisphosphonates ou les THM sont indiqués dans le traitement de l'ostéoporose post-ménopausique pour réduire le risque de fracture vertébrale et de la hanche chez les patientes à risque élevé de fracture (109). Cependant, le risque accru de maladie coronarienne, de cancer hormonodépendant et d'accident vasculaire cérébral pour les THM, et le risque d'ostéonécrose de la mâchoire et de fracture atypique pour les bisphosphonates peuvent décider les femmes à recourir à des traitements complémentaires et alternatifs.

a) Etudes in vitro

Des études *in vitro* ont été réalisées pour comprendre et définir le mécanisme d'action des isoflavones de soja sur la physiologie osseuse.

Sugimoto et al ont testé la daidzéine sur des cellules ostéoblastiques MC3T3-E1. Ils ont observé qu'une concentration de 10^{-5} M de daidzéine augmentait significativement les protéines produites par les ostéoblastes et l'activité de l'alkaline phosphatase, marqueur de la différenciation des cellules ostéoblastiques. Ils en concluent que la daidzéine agit sur la différenciation et la multiplication des cellules ostéoblastiques (132).

A l'inverse, Blair et al ont étudié les effets des isoflavones sur les ostéoclastes. En effet, leur activité de résorption osseuse est régulée par des mécanismes de phosphorylation impliquant les tyrosines kinases. Ils ont montré *in vitro* sur des cellules aviaires une inhibition de l'activité des tyrosines kinases et donc de l'activité ostéoclastique exercée par la génistéine à partir d'une concentration de $10\mu\text{M}$ (133).

b) Etudes cliniques

Pawlowski et al ont comme hypothèse que la capacité de convertir la daidzéine en équol améliorerait la suppression de la résorption osseuse (134). Leur objectif est alors de déterminer les effets des isoflavones et la capacité individuelle de produire du S-Eq sur la captation osseuse du calcium après la ménopause.

En effet, l'equol est biologiquement plus actif que son précurseur, la daidzéine. La différence interindividuelle quant à la capacité d'en produire pourrait être à l'origine de variations au niveau des effets observés des isoflavones de soja sur l'organisme humain.

Pour cela, ils ont réalisé une étude randomisée, croisée et en double aveugle pendant 2 ans, alternant 50 jours de prise des compléments alimentaires et 50 jours de sevrage. Lors de la période de prise de compléments alimentaires, les femmes ont aussi pris 15,2 mg/jour de calcium marqué (⁴⁴Ca) sous sa forme stable CaCO₃ (carbonate de calcium). Cette prise permettra aux auteurs d'évaluer, à la fin de l'étude, la concentration sanguine de calcium marqué, la concentration urinaire de calcium marqué et d'en déduire par calcul la fraction de calcium absorbée.

Les femmes incluses étaient divisées en 6 groupes selon le complément alimentaire qu'elles prenaient :

- Faible dose de génistéine (44,06 mg/jour) + 8,25 mg/jour de daidzéine ;
- Haute dose de génistéine (93,75 mg/jour) + 18,22 mg/jour de daidzéine ;
- Faible dose d'isoflavones : 46,20 mg/jour de génistéine + 44,27 mg/jour de daidzéine ;
- Forte dose d'isoflavones : 95,66 mg/jour de génistéine + 92,99 mg/jour de daidzéine ;
- Isoflavones de soja enrichies en génistéine : 91,02 mg/jour de génistéine + 54,53 mg/jour de daidzéine ;
- Risédronate (biphosphonate) : groupe contrôle.

Tableau 26 : Composition en isoflavones des compléments alimentaires utilisés dans l'étude (134).

| Intervention | Isoflavone content, mg/d (% of total isoflavones) | | | Total |
|--------------|---|---------------------|----------------------|--------|
| | Genistein equivalent | Daidzein equivalent | Glycitein equivalent | |
| Gen-low | 44.06 (83.4) | 8.25 (15.6) | 0.54 (1.0) | 52.85 |
| Gen-high | 93.75 (82.6) | 18.22 (16.1) | 1.55 (1.4) | 113.52 |
| Soy-low | 46.20 (43.9) | 44.27 (42.1) | 14.76 (14.0) | 105.23 |
| Soy-high | 95.66 (43.5) | 92.99 (42.3) | 31.02 (14.1) | 219.67 |
| Soy-gen | 91.02 (56.5) | 54.53 (33.9) | 15.52 (9.6) | 161.07 |

Le total reflète la quantité équivalente des formes aglycones des isoflavones.

Gen-low : faible dose de génistéine; Gen-high : haute dose de génistéine; Soy-low : faible dose d'isoflavones; Soy-high : haute dose d'isoflavones; Soy-gen : isoflavones enrichies en génistéine.

Dans chaque groupe, des femmes ont été incluses pour leur capacité à métaboliser la daidzéine en S-Eq, déterminée par la présence d'au moins 10µM de S-Eq dans les urines. Il sera ainsi possible de comparer leur résultat aux femmes considérées comme non productrices de S-Eq.

Les résultats de cette étude sont :

- Dans les quatre premiers groupes, consommant de 52 à 219 mg/jour d'isoflavones, la rétention osseuse de calcium a été augmentée de 3,4% à 7,7%, contre 15,3% pour le groupe prenant le risédronate ;
- Le complément alimentaire contenant les ratios naturels d'isoflavones de soja (correspondant à la prise totale de 105,23 mg/jour d'isoflavones) a permis l'augmentation de 7,6% la rétention osseuse de calcium ;
- Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les productrices de S-Eq et les non productrices.

Les auteurs en ont conclu que les isoflavones de soja, malgré leur plus faible efficacité comparés au risédronate, sont des agents permettant la préservation des os chez les femmes post-ménopausées, en augmentant la rétention osseuse de calcium quelque soit leur statut de productrice d'equol.

De plus, les isoflavones de soja administrées dans leurs proportions naturelles sont plus efficaces que les compléments alimentaires enrichis en génistéine. La génistéine ne peut donc être associée seule à des effets bénéfiques pour améliorer les symptômes liés à la ménopause.

Wu et al ont aussi étudié l'hypothèse que le S-Eq pouvait avoir un rôle prépondérant dans l'efficacité des isoflavones sur la densité osseuse chez les femmes ménopausées (135).

Pour ce faire, ils ont réalisé une étude clinique randomisée en double aveugle pendant 1 an, incluant des femmes japonaises post-ménopausées classées selon leur profil phénotypique de production de S-Eq. Une femme est dite equol-productrice si une proportion de plus de 10% de daidzéine est métabolisée en S-Eq, détecté dans les fèces et le sang.

Deux groupes ont été réalisés :

- Un groupe placebo composé de 29 femmes dont 15 classées productrices de S-Eq ;
- Un groupe exposé à la dose journalière de 75mg d'isoflavones, composé de 25 femmes dont 15 classées productrices de S-Eq.

Suite à l'analyse des données avant et après l'étude, les résultats sont :

- Une augmentation significative de la concentration sérique d'Eq chez les femmes classées productrices dans le groupe exposé aux isoflavones, et pas chez les femmes classées non productrices.
- Dans le groupe exposé aux isoflavones, les variations annualisées de la densité minérale osseuse de la hanche et des régions inter-trochantériennes sont respectivement de -0,46 % et -0,04% pour les productrices, et de -2,28% et -2,61% chez les non productrices → la résorption osseuse est significativement diminuée chez les productrices d'Eq consommant des isoflavones.
- Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les productrices et non productrices d'Eq dans le groupe placebo concernant la minéralisation osseuse.

Les auteurs en concluent que leurs données suggèrent que les effets préventifs des isoflavones sur la perte minérale osseuse chez les femmes ménopausées précoces dépendent de leur capacité de production d'Eq.

Petit aparté sur la répartition de la masse grasse chez les femmes ménopausées :

Il a été montré que les estrogènes modulent le dépôt de la masse grasse chez les femmes. La carence estrogénique lors de la ménopause déclenche une augmentation de l'adiposité centrale (136), et l'accumulation des graisses chez les femmes ménopausées est atténuée par la supplémentation estrogénique exclusive, ou associée à un progestatif (137,138).

En outre, l'augmentation de la masse grasse a toujours été associée à une augmentation de la morbi-mortalité et de l'incidence des maladies liées au mode de vie.

Les isoflavones de soja pourraient donc, via leurs activités estrogéniques, partiellement inhiber l'accumulation de masse grasse induite par la carence estrogénique.

Wu et al ont donc associé à leur étude (135) l'analyse de la répartition de la masse grasse chez les femmes ménopausées, avec le même design cité ci-avant.

Leurs résultats sont :

- Les variations de la masse grasse du corps entier, des bras et des jambes sont respectivement de -1,75%, +1,18%, -1,90% chez les productrices, et de +5,09%, +7,59%, +6,42% chez les non productrices exposées aux isoflavones → différence significative entre les productrices et les non productrices d'Eq.
- Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les productrices et non productrices d'Eq dans le groupe placebo concernant la répartition des graisses.

Malgré des résultats concluants, cette étude comporte diverses limites comme :

- le faible nombre de participantes ;
- le fait que l'étude soit trop courte pour avoir du recul sur des effets à plus ou moins long terme ;
- l'alimentation n'a pas été contrôlée. Il existe donc un possible biais d'exposition au soja via l'alimentation, qui constituerait un biais d'interprétation des résultats.

c) Méta-analyse

Le NDA de l'EFSA a aussi rendu un avis scientifique sur l'allégation de santé portant sur les isoflavones et leur effet sur le maintien de la densité osseuse lors de la ménopause (129).

Sur les 14 études cliniques, menées sur 12 mois, analysées :

- Seulement deux, réalisées par le même groupe de chercheurs sur 30 femmes post ménopausées présentant une ostéopénie ou une ostéoporose, ont conclu à des effets significatifs des isoflavones (à une dose de 54 mg/jour) sur la diminution de la

résorption osseuse au niveau du rachis et du col du fémur, avec une augmentation des marqueurs de formations osseuse et une diminution des marqueurs de résorption osseuse.

- Les douze autres études ont utilisé une dose de 40 à 200 mg/jour d'isoflavones sur un effectif d'au moins 50 femmes ménopausées, et n'ont pas montré d'effet sur la densité osseuse et l'expression des marqueurs de résorption ou de formation osseuse.
- Parmi les cinq études interventionnelles menées pendant 6 à 9 mois sur des femmes pré ou post ménopausées, une seule note des effets bénéfiques dose-dépendants (de 84 à 126 mg/jour) sur la densité minérale osseuse au niveau des vertèbres lombaires et du col du fémur, associés à une diminution des marqueurs de la résorption osseuse.

Le groupe d'experts souligne la petite taille des échantillons, le caractère exploratoire de ces études et que les preuves d'un mécanisme par lequel les isoflavones de soja peuvent exercer un effet sur la masse et le renouvellement osseux chez les femmes post ménopausées sont faibles.

De plus, il a été tenu compte que l'observation de ces résultats parfois incohérents ne pouvait pas seulement s'expliquer par des différences au niveau de la taille des échantillons, de la dose d'isoflavones utilisée, de la durée de l'intervention ou du statut ménopausique, surtout pour les études menées à court terme (6 à 9 mois).

En effet, il faut aussi prendre en compte le fait que les changements de la densité minérale osseuse au niveau de la colonne lombaire observés dans certaines études à court terme peuvent résulter d'une modification de l'équilibre du remodelage osseux qui peut ne pas être conservé dans les cycles de remodelage ultérieurs (i. e. le remodelage transitoire).

Le NDA conclut qu'il est possible de suggérer un effet positif des isoflavones de soja, consommés pendant 6 à 9 mois minimum par des femmes post ménopausées, sur la diminution de la déminéralisation osseuse, probablement par diminution de la résorption osseuse. Néanmoins, les preuves fournies sont insuffisantes pour établir une relation de cause à effet entre la consommation d'isoflavones de soja et le maintien de la densité minérale osseuse chez les femmes post ménopausées.

7. L'atrophie vaginale

Alors que les bouffées de chaleur et les sueurs nocturnes sont reconnues universellement comme étant les signes les plus fréquents de la ménopause, d'autres symptômes peuvent être prédominants au fur et à mesure des années. Le tractus urogénital est particulièrement sensible à la baisse des estrogènes, et environ une femme ménopausée sur deux aura des signes liés à cette atrophie urogénitale, affectant la sexualité et la qualité de vie (122).

L'atrophie vaginale devient cliniquement visible 4 à 5 ans après la ménopause, et des modifications objectives aussi bien que des plaintes subjectives sont présentes chez 25 à 50% des femmes ménopausées. Les symptômes liés à cette atrophie vaginale apparaissent souvent de manière progressive dès le début de la ménopause, et nécessitent parfois un traitement.

Au fur et à mesure des années, la prévalence de la sécheresse vaginale augmente, et entraîne d'autres symptômes tels que des brûlures, des irritations, une dyspareunie (douleurs lors des rapports sexuels), pouvant altérer la qualité de vie des femmes.

Ces symptômes cliniques sont les conséquences de la diminution des estrogènes. En effet, en l'absence d'estrogènes, la prolifération des cellules du tissu de soutien augmente, l'élastine se fragmente, le collagène devient hyalinisé modifiant la morphologie de l'épithélium, la production des sécrétions vaginales diminue, et le pH vaginal augmente à cause de la diminution de la flore saprophyte composée des bacilles de Doderlein (122).

Ghazanfarpour et al ont réalisé une méta-analyse sur des études contrôlées randomisées étudiant les effets des phyto-estrogènes sur l'atrophie vaginale de femmes ménopausées (139). Les observations lors de cette méta-analyse sont décrites dans les tableaux ci-après.

Tableau 27 : Méthodologie et résultats des études analysées dans la méta-analyse (139) portant sur la dyspareunie et la sécheresse vaginale.

| Etudes | Age moyen (ans) | Exposition | Durée d'exposition (semaines) | Dyspareunie | Sécheresse vaginale | Remarques |
|--------------------------------|-----------------|--|-------------------------------|---|---|--|
| Hanachi et al (140) | 52 | - lait de soja (prise journalière : 13mg de génistéine et 4,13mg de daidzéine) - lait de soja + exercice - placebo | 12 | Diminution significative de : - 62% (groupe au lait de soja) - 45% (groupe lait de soja + exercice) | Diminution significative de : - 70% (groupe au lait de soja) - 50% (groupe lait de soja + exercice) | Résultats qualitatifs, se basant sur le ressenti des patientes |
| Carmignani et al (126) | 51 | - 90mg/jour d'isoflavones - THM : 1mg d'estradiol + 0,5mg d'acétate de noréthistérone/ jour - placebo | 16 | Diminution significative de : - 25% pour le groupe THM - 20% pour le groupe des isoflavones - contre une augmentation de 15% pour le placebo | Diminution significative dans les groupes exposés aux isoflavones et au THM | Résultats qualitatifs, se basant sur le ressenti des patientes De plus des EI ont été rapportés dans cette étude chez les femmes du groupe des isoflavones tels que maux de tête, rétention d'eau, prise de poids |
| Kotsopoulos et al (141) | 59 | - 118mg/jour d'isoflavones - placebo | 12 | Résultats non significatifs de la diminution de perception de ces deux symptômes | | |

Tableau 28 : Méthodologie et résultats des études analysées portant sur l'index de maturation et la valeur de maturation vaginale (139).

| Etude | Age moyen (ans) | Exposition | Durée d'exposition (semaines) | Index de maturation | Valeur de maturation | Remarques |
|---------------------------------|-----------------------------------|--|-------------------------------|--|--|---|
| Uesugi et al (142) | 53 | - 61,8mg/j d'isoflavones - placebo | 12 | - Diminution significative des cellules parabasales - Augmentation des cellules intermédiaire - Diminution non significative des cellules superficielles par rapport au placebo | / | |
| Upmalis et al (143) | 55 | -50mg/jour d'isoflavones - placebo | 12 | Aucun effet significatif mis en évidence dans les deux groupes | / | 33,7% des femmes du groupe exposé aux isoflavones rapportent des EI |
| 7 études analysées (139) | 52-65 (494 participantes en tout) | - entre 47 et 200mg/j d'isoflavones - placebo | 4 - 52 | / | Augmentation non significative dans le groupe exposé aux isoflavones | |

L'index de maturation est un index quantitatif qui permet de déterminer le pourcentage relatif des cellules parabasales, intermédiaires et superficielles de l'épithélium vaginal. Un pourcentage plus élevé de cellules parabasales représente un épithélium plus immature et moins différencié, à l'inverse un pourcentage plus élevé de cellules superficielles représente un épithélium plus mature et mieux différencié. Un index de maturation anormal correspond à une diminution du pourcentage des cellules superficielles et une augmentation des cellules parabasales.

La valeur de maturation est un index quantitatif résultant du calcul du pourcentage relatif de cellules superficielles comparées aux cellules intermédiaires et parabasales.

Ces deux index sont des outils pour aider à poser un diagnostic de ménopause.

Les auteurs de cette méta-analyse concluent que les isoflavones de soja semblent exercer des effets bénéfiques sur les symptômes vaginaux des femmes en post ménopause. Mais ils précisent que cette conclusion est à interpréter avec prudence car leur étude comporte de nombreuses limites. En effet, l'hétérogénéité des études sélectionnées (variations au niveau du dosage des isoflavones, de leur forme, de la durée de traitement), le manque de résultats statistiques complets ou la présence d'analyses incomplètes (études concernées non citées ici) dans certaines études diminuent la significativité des résultats.

Dans les études à venir, de meilleures approches méthodologiques et statistiques permettraient de confirmer ou d'infirmier ces conclusions préliminaires.

Conclusion :

Les données actuelles n'étant pas concluantes, il est justifié de poursuivre l'étude des phyto-estrogènes pour le soulagement des symptômes de la ménopause et de leurs effets indésirables potentiels à long terme. Malgré cela, les résultats suggèrent que, pour des femmes ménopausées dont le profil est connu et bien analysé, un apport adapté de phyto-estrogènes peut avoir un effet bénéfique sur la réduction des effets de la ménopause.

Lors d'une analyse des risques encourus par les femmes péri- et post-ménopausées consommant des compléments alimentaires contenant des isoflavones, l'EFSA a indiqué, qu'au vu de l'examen des éléments scientifiques disponibles, aux doses habituellement observées dans les compléments alimentaires, les isoflavones ne représentaient pas un danger pour les femmes post-ménopausées (144).

Cependant, cette conclusion se limite aux doses et aux durées d'apport présentées dans les études analysées.

De plus, le groupe d'expert a conclu qu'il n'était pas possible de dériver une valeur indicative pour la santé (HBGV, *Health-Based Guidance Value*), telle qu'une dose journalière tolérable ou une dose journalière admissible, ou encore de définir un niveau d'ingestion sûr pour les compléments alimentaires contenant des isoflavones.

Les doses et les durées de traitement utilisées dans les études interventionnelles analysées ne montrant pas d'EI peuvent servir de guide dans le choix d'un dosage ou d'une durée de traitement adaptée à la patiente.

Le conseil de compléments alimentaires, selon leur dosage, peut donc être prodigué avec prudence, sur une durée d'au moins 3 mois pour en observer les bienfaits minimums, à des patientes ne présentant aucune CI (qui sont les mêmes que pour les THM). L'efficacité et la tolérance des compléments alimentaires doivent être appréciés et évalués régulièrement pour prévenir au maximum la potentielle survenue d'EI.

VI. Conseils à l'officine

Le pharmacien d'officine est un acteur important de la prise en charge des patients en ville. Professionnel de santé de proximité, ses conseils sont largement sollicités par divers type de patient, citons:

- une femme ménopausée symptomatique désirant être soulagée ;
- une femme atteinte d'un cancer du sein désirant de plus amples informations sur le traitement de sa maladie ;
- un parent se préoccupant de la croissance de son enfant ;
- une personne simplement désireuse de faire la part des choses sur les bénéfices des compléments alimentaires largement mis en avant par les campagnes publicitaires.

Le pharmacien d'officine doit être en mesure, sur la base de ses connaissances, du renouvellement de son savoir selon les avancées de la science et de l'attirail thérapeutique qui concerne les compléments alimentaires, de répondre aux besoins de chaque patient. Les conseils doivent être prodigués avec vigilance: il est primordial que le pharmacien fasse une analyse critique des caractéristiques des produits existants en regard du profil physiologique et pathologique du patient. C'est ainsi que le pharmacien peut garantir la sécurité et l'efficacité du produit conseillé.

Vis-à-vis d'une alimentation riche en phyto-estrogènes ou de la prise de compléments alimentaires enrichis, les éléments rassemblés dans la présente étude conduisent à formuler les conseils suivants :

Tableau 29 : Conseils selon le profil du patient.

| Patient | Conseils associés |
|-----------------------------|---|
| Nourrissons | <p>Les données préliminaires sur le lait de soja infantile ne permettent pas de conclure définitivement ni à une réelle toxicité, ni à une totale innocuité.</p> <p>Cependant, les études mettent en lumière de possibles effets indésirables lors du développement ou pouvant se répercuter à plus long terme, comme lors de la puberté.</p> <p>Le fait que les nourrissons soient sensibles aux produits exogènes et l'absence de preuves pour les bienfaits m'amènent à cette conclusion :</p> <p><i>Il serait judicieux à ce stade des connaissances de déconseiller les laits infantiles à base de soja et leurs préférer le lait maternel, les laits infantiles à base de lait de vache ou sans lactose, nombreux sur le marché aujourd'hui.</i></p> |
| Enfant en croissance | <p>Les enfants intolérants ou allergiques au lactose, ou de parents végétariens/végétaliens, peuvent facilement être exposés à des doses importantes de phyto-estrogènes via leur alimentation.</p> |

| | |
|---|---|
| | <p><i>La consommation de soja n'est pas à proscrire, mais le conseil serait de ne pas excéder une dose de 1 mg/kg/jour, afin d'éviter d'atteindre une dose bioactive pouvant engendrer des effets encore mal connus sur le développement de l'enfant.</i></p> |
| Femme en âge de procréer | <p>Certaines données se veulent rassurantes quant à la consommation passée/actuelle d'isoflavones de soja et le risque de cancer du sein.</p> <p><i>Néanmoins, il est conseillé d'éviter le soja s'il y a présence d'antécédents personnels ou familiaux de cancer du sein, et autres cancers hormonodépendants.</i></p> |
| Femme enceinte | <p>Nous savons que :</p> <ul style="list-style-type: none"> - les phyto-estrogènes passent la barrière fœto-placentaire ; - les mécanismes de ces derniers sur le développement <i>in utero</i> sont encore mal compris et potentiellement néfastes (risque de mort-né). <p><i>Il est judicieux de conseiller d'éviter le soja tout au long de la grossesse afin de prévenir de potentiels effets indésirables sur le développement in utero du fœtus et de potentielles répercussions sur le développement plus tardif de l'enfant.</i></p> |
| Femme atteinte d'un cancer du sein | <p>Cancer du sein hormonodépendant :</p> <p><i>Le soja est vivement déconseillé (ainsi que les autres plantes contenant des phyto-estrogènes) sous forme de complément alimentaire, ou via l'alimentation (risque de potentialisation de la tumorigénèse).</i></p> <p>Traitée par tamoxifène : nous avons trop peu de données rassurantes sur le lien phyto-estrogènes/tamoxifène, beaucoup plus d'inconnues, avec des éléments histologiques tels que le GPER non pris en compte.</p> <p>Par mesure de précaution :</p> <p><i>Les phyto-estrogènes sont déconseillés (que ce soit via l'alimentation ou les compléments alimentaires).</i></p> <p><i>Par mesure de précaution, toutes les femmes atteintes d'un cancer du sein devraient éviter le soja et tout produit contenant des phyto-estrogènes.</i></p> <p>Les études se veulent rassurantes en ce qui concerne les consommations passée et actuelle et le risque de cancer du sein. De nombreux facteurs entrent en jeu dans le processus complexes de cancérogenèse.</p> <p>Mais lorsque le cancer est présent, il est conseillé de ne consommer aucun phyto-estrogène, que ce soit via l'alimentation ou les compléments alimentaires, car ils pourraient participer à la croissance exponentielle des tumeurs. Il est important de prendre en compte les facteurs de risque</p> |

| | |
|-------------------------|--|
| | modifiables des pathologies, même si les phyto-estrogènes ne sont malheureusement pas encore considérés comme tel officiellement. |
| Femme ménopausée | <p>Au vue des faibles preuves d'efficacité et l'absence de données puissantes sur les effets au long court :</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>la prise sur le long terme de compléments alimentaires contenant des isoflavones n'est pas conseillée ;</i> - <i>selon le profil physiologique/pathologique de la femme (absence de CI, qui sont les mêmes que pour les THM) : consommation de compléments alimentaires possible, à la plus faible dose possible et pendant la durée la plus courte possible ;</i> - <i>l'efficacité et la tolérance des compléments alimentaires doivent être évaluées régulièrement et nécessite un suivi médical selon le profil de la patiente ;</i> - <i>si les symptômes accompagnant la ménopause ne sont pas invalidants, conseiller plutôt des compléments alimentaires sans phyto-estrogènes.</i> |
| Homme | <p>Le risque d'une altération de la qualité du sperme et donc de la fertilité masculine ne peut être écarté. De ce fait :</p> <p><i>La consommation de soja n'est pas à proscrire, mais une consommation excessive est à déconseiller. La dose de 1mg/kg/jour nous permet, selon les connaissances actuelles, d'éviter le plus possible des effets néfastes à plus ou moins long terme</i></p> |

Dans l'alimentation générale, il est conseillé pour l'ensemble de la population, de consommer du soja (et autres aliments contenant des facteurs antinutritionnels, des phyto-estrogènes) **tous les 2-3 jours, sans dépasser une dose de 1mg/kg/jour.**

En effet, cela permet :

- d'assurer une élimination complète des phyto-estrogènes (la demi-vie étant de 24h) ;
- d'éviter d'atteindre des concentrations sériques importantes bioactives, limitant ainsi de potentiels effets négatifs à plus ou moins long terme ;
- et de pouvoir profiter des valeurs nutritionnelles que nous apportent cette légumineuse.

"Tout est poison, rien n'est poison : c'est la dose qui fait le poison"

Paracelse, père de la toxicologie

Références bibliographiques

1. iprachenko shutterstock. Tofu [Internet]. Disponible sur: <https://www.papillesetpupilles.fr/2009/12/le-tofu.html/>
2. Asia marché. Sauce soja Kikkoman [Internet]. Disponible sur: https://www.asiamarche.fr/tous-nos-condiments-asiatiques/1322-78-sauce-soja-kikkoman-150ml.html?gclid=EAlalQobChMIyIPrnNrz7AIVCfIRCh3FFwMqEAQYASABEgKaefD_BwE#/41-contenance-150ml
3. Kettenhofen/sucré salé. Soupe miso [Internet]. Disponible sur: <https://www.cuisineactuelle.fr/recettes/soupe-miso-214517>
4. Bennetau-Pelissero C. Plant Proteins from Legumes. In: Bioactive Molecules in Food, Reference Series in Phytochemistry. Mérillon JM, Ramawat K.G., editors. Cham Springer; 2018. p. 1-43.
5. Joyeux H, Joyeux J, Joyeux L. Changez d'alimentation. Editions du Rocher. Paris: Pocket; 2016.
6. Ozenda P. LES VEGETAUX Organisation et diversité biologique. 2ème édition. Dunod; 2007.
7. Meyer S, Reeb C, Bosdeveix R. BOTANIQUE Biologie et Physiologie Végétales. 3ème édition. Maloine; 2009.
8. Le soja, description de la plante [Internet]. Disponible sur: <http://www.guide-phytosante.org/menopause/soja/soja-description-plante.html>
9. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). FAOSTAT [Internet]. [cité 30 janv 2020]. Disponible sur: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
10. American Soybean Association. 2019 SOYSTATS, A REFERENCE GUIDE TO SOYBEAN FACTS AND FIGURES [Internet]. 2020. Disponible sur: <http://soystats.com/>
11. Production mondiale de soja [Internet]. [cité 26 juin 2020]. Disponible sur: <https://www.planetoscope.com/cereales/200-production-mondiale-de-soja.html>
12. Consommation de soja en France [Internet]. [cité 26 juin 2020]. Disponible sur: <https://www.planetoscope.com/cereales/1713-consommation-de-soja-en-france.html>
13. Agreste ; La statistique, l'évaluation et la prospective agricole du ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation. GRAPH'AGRI 2019 [Internet]. 2019. Disponible sur: www.agreste.agriculture.gouv.fr
14. Bennetau-Pelissero C. Isoflavonoids and Phytoestrogenic Activity. In: Natural Products. Ramawat K.G., Mérillon JM, editors. 2013. p. 2381-432.
15. González FG, Rigalli N, Miranda PV, Romagnoli M, Ribichich KF, Trucco F, et al. An Interdisciplinary Approach to Study the Performance of Second-generation Genetically

Modified Crops in Field Trials: A Case Study With Soybean and Wheat Carrying the Sunflower HaHB4 Transcription Factor. *Front Plant Sci.* 6 mars 2020;11:178.

16. Fried HG, Narayanan S, Fallen B. Characterization of a soybean (*Glycine max* L. Merr.) germplasm collection for root traits. *Aroca R, éditeur. PLoS ONE.* 11 juill 2018;13(7):e0200463.
17. Kamle M, Kumar P, Patra JK, Bajpai VK. Current perspectives on genetically modified crops and detection methods. *3 Biotech.* juill 2017;7(3):219.
18. Gao S-Q, Chen M, Xu Z-S, Zhao C-P, Li L, Xu H, et al. The soybean GmbZIP1 transcription factor enhances multiple abiotic stress tolerances in transgenic plants. *Plant Mol Biol. avr 2011;75(6):537-53.*
19. Barnes S. The Biochemistry, Chemistry and Physiology of the Isoflavones in Soybeans and their Food Products. *Lymphatic Research and Biology.* mars 2010;8(1):89-98.
20. Velderrain-Rodríguez GR, Palafox-Carlos H, Wall-Medrano A, Ayala-Zavala JF, Chen C-YO, Robles-Sánchez M, et al. Phenolic compounds: their journey after intake. *Food Funct.* 2014;5(2):189-97.
21. Fernandez-Lopez A, Lamothe V, Delamplé M, Denayrolles M, Bennetau-Pelissero C. Removing isoflavones from modern soyfood: Why and how? *Food Chemistry.* nov 2016;210:286-94.
22. Matthews J and Gustafsson J-A. Estrogen Signaling: A Subtle Balance Between ER α and ER β . *Molecular Interventions.* août 2003;3(5):281-92.
23. Thomas P, Dong J. Binding and activation of the seven-transmembrane estrogen receptor GPR30 by environmental estrogens: A potential novel mechanism of endocrine disruption. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology.* déc 2006;102(1-5):175-9.
24. Björnström L, Sjöberg M. Mechanisms of Estrogen Receptor Signaling: Convergence of Genomic and Nongenomic Actions on Target Genes. *Molecular Endocrinology.* 1 avr 2005;19(4):833-42.
25. Molina L, Figueroa CD, Bhoola KD, Ehrenfeld P. GPER-1/GPR30 a novel estrogen receptor sited in the cell membrane: therapeutic coupling to breast cancer. *Expert Opinion on Therapeutic Targets.* 3 août 2017;21(8):755-66.
26. Touillaud M, Gelot A, Mesrine S, Bennetau-Pelissero C, Clavel-Chapelon F, Arveux P, et al. Use of dietary supplements containing soy isoflavones and breast cancer risk among women aged >50 y: a prospective study. *American Society for Nutrition.* 2019;00:1-9.
27. Filardo EJ, Thomas P. GPR30: a seven-transmembrane-spanning estrogen receptor that triggers EGF release. *Trends in Endocrinology & Metabolism.* oct 2005;16(8):362-7.
28. Wu J, Oka J, Ezaki J, Ohtomo T, Ueno T, Uchiyama S, et al. Possible role of equol status in the effects of isoflavone on bone and fat mass in postmenopausal Japanese women: a double-blind, randomized, controlled trial. *Menopause.* sept 2007;14(5):866-74.

29. Rietjens IMCM, Louisse J, Beekmann K. The potential health effects of dietary phytoestrogens. *British Journal of Pharmacology*. juin 2017;174(11):1263-80.
30. Agence française de sécurité sanitaire des aliments, Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Sécurité et bénéfices des phyto-estrogènes apportés par l'alimentation: recommandations. Maisons-Alfort: AFSSA; 2005.
31. Hu C, Wong W-T, Wu R, Lai W-F. Biochemistry and use of soybean isoflavones in functional food development. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 5 juill 2019;1-15.
32. Xie Q, Bai Q, Zou L-Y, Zhang Q-Y, Zhou Y, Chang H, et al. Genistein inhibits DNA methylation and increases expression of tumor suppressor genes in human breast cancer cells: Genistein Inhibits DNA Methylation. *Genes Chromosomes Cancer*. mai 2014;53(5):422-31.
33. He F-J, Chen J-Q. Consumption of soybean, soy foods, soy isoflavones and breast cancer incidence: Differences between Chinese women and women in Western countries and possible mechanisms. *Food Science and Human Wellness*. sept 2013;2(3-4):146-61.
34. Chiyomaru T, Yamamura S, Fukuhara S, Hidaka H, Majid S, Saini S, et al. Genistein Up-Regulates Tumor Suppressor MicroRNA-574-3p in Prostate Cancer. *Yang BB, éditeur. PLoS ONE*. 12 mars 2013;8(3):e58929.
35. Bi Y, Min M, Shen W, Liu Y. Genistein induced anticancer effects on pancreatic cancer cell lines involves mitochondrial apoptosis, G 0 /G 1 cell cycle arrest and regulation of STAT3 signalling pathway. *Phytomedicine*. janv 2018;39:10-6.
36. Lacour B, Belon J-P. *Physiologie humaine*. Elsevier Masson; 2016.
37. Maudelonde T, Alix-Panabières C, Vilquin P. Estrogènes : physiologie et aspects moléculaires. *EMC - Gynécologie*. 2018;13(1):1-17.
38. Migaud M, Dardente H, Keller M, Batailler M, Meurisse M, Pillon D. Contrôle neuroendocrinien de la reproduction chez les mammifères. *INRA Prod Anim*. 2016;29(4):255-66.
39. Alexander GM, Wilcox T, Farmer ME. Hormone-behavior associations in early infancy. *Hormones and Behavior*. nov 2009;56(5):498-502.
40. Lamminmäki A, Hines M, Kuiri-Hänninen T, Kilpeläinen L, Dunkel L, Sankilampi U. Testosterone measured in infancy predicts subsequent sex-typed behavior in boys and in girls. *Hormones and Behavior*. avr 2012;61(4):611-6.
41. Hofman MA, Swaab DF. Sexual dimorphism of the Human Brain : Myth and Reality. *Exp Clin Endocrinol*. 1991;98(2):161-70.
42. Sharpe RM, Martin B, Morris K, Greig I, McKinnell C, McNeilly AS, et al. Infant feeding with soy formula milk: effects on the testis and on blood testosterone levels in marmoset monkeys during the period of neonatal testicular activity. *Human Reproduction*. 1 juill 2002;17(7):1692-703.

43. Ikeda M, Mitsui T, Setani K, Tamura M, Takeyama M, Sone H, et al. In utero and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in rats disrupts brain sexual differentiation. *Toxicol Appl Pharmacol.* 15 mai 2005;205(1):98-105.
44. Adgent MA, Daniels JL, Edwards LJ, Siega-Riz AM, Rogan WJ. Early-Life Soy Exposure and Gender-Role Play Behavior in Children. *Environmental Health Perspectives.* déc 2011;119(12):1811-6.
45. Jervis KM, Robaire B. Dynamic Changes in Gene Expression along the Rat Epididymis1. *Biology of Reproduction.* 1 sept 2001;65(3):696-703.
46. Dostalova P, Zatecka E, Dvorakova-Hortova K. Of Oestrogens and Sperm: A Review of the Roles of Oestrogens and Oestrogen Receptors in Male Reproduction. *International Journal of Molecular Sciences.* 25 avr 2017;18(5):904.
47. Glover A, Assinder SJ. Acute exposure of adult male rats to dietary phytoestrogens reduces fecundity and alters epididymal steroid hormone receptor expression. *Journal of Endocrinology.* juin 2006;189(3):565-73.
48. Assinder S, Davis R, Fenwick M, Glover A. Adult-only exposure of male rats to a diet of high phytoestrogen content increases apoptosis of meiotic and post-meiotic germ cells. *Reproduction.* janv 2007;133(1):11-9.
49. Inen VP, Erkkila K, Suomalainen L, Parvinen M, Dunkel L. Estradiol Acts as a Germ Cell Survival Factor in the Human Testis in Vitro. 2000;85(5):11.
50. Robertson KM, O'Donnell L, Jones MEE, Meachem SJ, Boon WC, Fisher CR, et al. Impairment of spermatogenesis in mice lacking a functional aromatase (cyp 19) gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 6 juill 1999;96(14):7986-91.
51. Forti G, Vannelli GB, Barni T, Orlando C, Balboni GC, Serio M. Androgen-Binding Protein and Other Sertoli Cell Proteins in Human Testis. *Annals of the New York Academy of Sciences.* sept 1988;538(1 Steroid-Prote):167-72.
52. Munell F, Suárez-Quian CA, Selva DM, Tirado OM, Reventós J. Androgen-binding protein and reproduction: where do we stand? *J Androl.* oct 2002;23(5):598-609.
53. Aleem M, Padwal V, Choudhari J, Balasinor N, Parte P, Gill-Sharma MK. Estradiol affects androgen-binding protein expression and fertilizing ability of spermatozoa in adult male rats. *Molecular and Cellular Endocrinology.* juill 2006;253(1-2):1-13.
54. Toshima H, Suzuki Y, Imai K, Yoshinaga J, Shiraishi H, Mizumoto Y, et al. Endocrine disrupting chemicals in urine of Japanese male partners of subfertile couples: A pilot study on exposure and semen quality. *International Journal of Hygiene and Environmental Health.* sept 2012;215(5):502-6.
55. Mumford SL, Kim S, Chen Z, Barr DB, Louis GMB. Urinary Phytoestrogens Are Associated with Subtle Indicators of Semen Quality among Male Partners of Couples Desiring Pregnancy. *The Journal of Nutrition.* 1 nov 2015;145(11):2535-41.

56. Xia Y, Chen M, Zhu P, Lu C, Fu G, Zhou X, et al. Urinary phytoestrogen levels related to idiopathic male infertility in Chinese men. *Environment International*. sept 2013;59:161-7.
57. Chavarro JE, Toth TL, Sadio SM, Hauser R. Soy food and isoflavone intake in relation to semen quality parameters among men from an infertility clinic. *Human Reproduction*. 29 juill 2008;23(11):2584-90.
58. Yuan G, Liu Y, Liu G, Wei L, Wen Y, Huang S, et al. Associations between semen phytoestrogens concentrations and semen quality in Chinese men. *Environment International*. août 2019;129:136-44.
59. Adgent MA, Umbach DM, Zemel BS, Kelly A, Schall JI, Ford EG, et al. A Longitudinal Study of Estrogen-Responsive Tissues and Hormone Concentrations in Infants Fed Soy Formula. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1 mai 2018;103(5):1899-909.
60. Freni-Titulaer LW. Premature Thelarche in Puerto Rico: A Search for Environmental Factors. *Am J Dis Child*. 1 déc 1986;140(12):1263.
61. Mulrone SE, Myers AK, Portet F, Netter FH, Raynaud de Mauverger É. *Mémoires de physiologie Netter*. 2020.
62. Strom BL. Exposure to Soy-Based Formula in Infancy and Endocrinological and Reproductive Outcomes in Young Adulthood. *JAMA*. 15 août 2001;286(7):807-14.
63. D'Aloisio AA, DeRoo LA, Baird DD, Weinberg CR, Sandler DP. Association of Early Life Factors With Age at Menarche in the Sister Study. *Annals of Epidemiology*. sept 2009;19(9):677.
64. Upson K, Adgent MA, Wegienka G, Baird DD. Soy-based infant formula feeding and menstrual pain in a cohort of women aged 23–35 years. *Human Reproduction*. 1 janv 2019;34(1):148-54.
65. Upson K, Harmon QE, Laughlin-Tommaso SK, Umbach DM, Baird DD. Soy-based Infant Formula Feeding and Heavy Menstrual Bleeding Among Young African American Women: *Epidemiology*. sept 2016;27(5):716-25.
66. Jacobsen B, Jaceldo-Siegl K, Knutsen SF, Fan J, Oda K, Fraser GE. Soy isoflavone intake and the likelihood of ever becoming a mother: the Adventist Health Study-2. *International Journal of Women's Health*. avr 2014;377.
67. D'Aloisio AA, Baird DD, DeRoo LA, Sandler DP. Association of Intrauterine and Early-Life Exposures with Diagnosis of Uterine Leiomyomata by 35 Years of Age in the Sister Study. *Environmental Health Perspectives*. mars 2010;118(3):375-81.
68. Baird DD, Newbold R. Prenatal diethylstilbestrol (DES) exposure is associated with uterine leiomyoma development. *Reproductive Toxicology*. mai 2005;20(1):81-4.
69. Newbold RR, Banks EP, Bullock B, Jefferson WN. Uterine Adenocarcinoma in Mice Treated Neonatally with Genistein. :5.

70. Upson K, Harmon QE, Baird DD. Soy-Based Infant Formula Feeding and Ultrasound-Detected Uterine Fibroids among Young African-American Women with No Prior Clinical Diagnosis of Fibroids. *Environmental Health Perspectives*. juin 2016;124(6):769-75.
71. Day Baird D, Dunson DB, Hill MC, Cousins D, Schectman JM. High cumulative incidence of uterine leiomyoma in black and white women: Ultrasound evidence. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. janv 2003;188(1):100-7.
72. Laughlin SK, Baird DD, Savitz DA, Herring AH, Hartmann KE. Prevalence of Uterine Leiomyomas in the First Trimester of Pregnancy: An Ultrasound-Screening Study. *Obstetrics & Gynecology*. mars 2009;113(3):630-5.
73. Foster WG, Chan S, Platt L, Hughes CL. Detection of phytoestrogens in samples of second trimester human amniotic fluid. *Toxicology Letters*. mars 2002;129(3):199-205.
74. Meena R, Supriya Ch, Pratap Reddy K, Sreenivasula Reddy P. Altered spermatogenesis, steroidogenesis and suppressed fertility in adult male rats exposed to genistein, a non-steroidal phytoestrogen during embryonic development. *Food and Chemical Toxicology*. janv 2017;99:70-7.
75. NTP-CERHR Monograph on Soy Infant Formula. :750.
76. National Toxicology Program. Multigenerational reproductive study of genistein (Cas No. 446-72-0) in Sprague-Dawley rats (feed study). *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser*. mars 2008;(539):1-266.
77. National Toxicology Program. Toxicology and carcinogenesis studies of genistein (Cas No. 446-72-0) in Sprague-Dawley rats (feed study). *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser*. janv 2008;(545):1-240.
78. Awoniyi CA, Roberts D, Veeramachaneni DNR, Hurst BS, Tucker KE, Schlaff WD. Reproductive sequelae in female rats after in utero and neonatal exposure to the phytoestrogen genistein. *Fertility and Sterility*. sept 1998;70(3):440-7.
79. Casanova M. Developmental effects of dietary phytoestrogens in Sprague-Dawley rats and interactions of genistein and daidzein with rat estrogen receptors alpha and beta in vitro. *Toxicological Sciences*. 1 oct 1999;51(2):236-44.
80. Delclos KB, Bucci TJ, Lomax LG, Latendresse JR, Warbritton A, Weis CC, et al. Effects of dietary genistein exposure during development on male and female CD (Sprague-Dawley) rats. *Reproductive Toxicology*. nov 2001;15(6):647-63.
81. Ferguson SA, Delclos KB, Newbold RR, Flynn KM. Few effects of multi-generational dietary exposure to genistein or nonylphenol on sodium solution intake in male and female Sprague-Dawley rats. *Neurotoxicology and Teratology*. mai 2009;31(3):143-8.
82. Flynn KM. Effects of Genistein Exposure on Sexually Dimorphic Behaviors in Rats. *Toxicological Sciences*. 1 juin 2000;55(2):311-9.
83. Masutomi N, Shibutani M, Takagi H, Uneyama C, Takahashi N, Hirose M. Impact of dietary exposure to methoxychlor, genistein, or diisononyl phthalate during the perinatal

period on the development of the rat endocrine/reproductive systems in later life. *Toxicology*. nov 2003;192(2-3):149-70.

84. Doerge DR, Churchwell MI, Chang HC, Newbold RR, Delclos KB. Placental transfer of the soy isoflavone genistein following dietary and gavage administration to Sprague Dawley rats. *Reproductive Toxicology*. mars 2001;15(2):105-10.
85. Doerge DR, Twaddle NC, Churchwell MI, Newbold RR, Delclos KB. Lactational transfer of the soy isoflavone, genistein, in Sprague–Dawley rats consuming dietary genistein. *Reproductive Toxicology*. avr 2006;21(3):307-12.
86. Tan KAL, Walker M, Morris K, Greig I, Mason JI, Sharpe RM. Infant feeding with soy formula milk: effects on puberty progression, reproductive function and testicular cell numbers in marmoset monkeys in adulthood. *Human Reproduction*. 1 avr 2006;21(4):896-904.
87. Gilchrist JM, Moore MB, Andres A, Estroff JA, Badger TM. Ultrasonographic Patterns of Reproductive Organs in Infants Fed Soy Formula: Comparisons to Infants Fed Breast Milk and Milk Formula. *The Journal of Pediatrics*. févr 2010;156(2):215-20.
88. Dolinoy DC, Weidman JR, Waterland RA, Jirtle RL. Maternal Genistein Alters Coat Color and Protects A^{vy} Mouse Offspring from Obesity by Modifying the Fetal Epigenome. *Environmental Health Perspectives*. avr 2006;114(4):567-72.
89. Harlid S, Adgent M, Jefferson WN, Panduri V, Umbach DM, Xu Z, et al. Soy Formula and Epigenetic Modifications: Analysis of Vaginal Epithelial Cells from Infant Girls in the IFED Study. *Environmental Health Perspectives*. mars 2017;125(3):447-52.
90. Russo J, Gusterson BA, Rogers AE, Russo IH, Wellings SR, van Zwieten MJ. Comparative study of human and rat mammary tumorigenesis. *Lab Invest*. mars 1990;62(3):244-78.
91. Hilakivi-Clarke L, Onojafe I, Raygada M, Cho E, Skaar T, Russo I, et al. Prepubertal exposure to zearalenone or genistein reduces mammary tumorigenesis. *Br J Cancer*. août 1999;80(11):1682-8.
92. Cabanes A. Prepubertal estradiol and genistein exposures up-regulate BRCA1 mRNA and reduce mammary tumorigenesis. *Carcinogenesis*. 19 déc 2003;25(5):741-8.
93. Padilla-Banks E, Jefferson WN, Newbold RR. Neonatal Exposure to the Phytoestrogen Genistein Alters Mammary Gland Growth and Developmental Programming of Hormone Receptor Levels. *Endocrinology*. 1 oct 2006;147(10):4871-82.
94. Lamartiniere CA. Daidzein: Bioavailability, Potential for Reproductive Toxicity, and Breast Cancer Chemoprevention in Female Rats. *Toxicological Sciences*. 1 févr 2002;65(2):228-38.
95. Hakkak R, Korourian S, Shelnutt SR, Lensing S, Ronis MJJ, Badger TM. Diets Containing Whey Proteins or Soy Protein Isolate Protect against 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene-induced Mammary Tumors in Female Rats. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2000;9:113-7.

96. Simmen RCM, Eason RR, Till SR, Chatman L, Velarde MC, Geng Y, et al. Inhibition of NMU-induced mammary tumorigenesis by dietary soy. *Cancer Letters*. juin 2005;224(1):45-52.
97. Foster WG. Mammary Gland Morphology in Sprague-Dawley Rats following Treatment with an Organochlorine Mixture in Utero and Neonatal Genistein. *Toxicological Sciences*. 22 déc 2003;77(1):91-100.
98. Boucher BA, Cotterchio M, Kreiger N, Thompson LU. Soy Formula and Breast Cancer Risk: *Epidemiology*. janv 2008;19(1):165-6.
99. Santé Publique France. Cancer du sein [Internet]. [cité 2 avr 2020]. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/cancers/cancer-du-sein>
100. Institut National du Cancer. Cancer du sein [Internet]. [cité 2 avr 2020]. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Les-chiffres-du-cancer-en-France/Epidemiologie-des-cancers/Les-cancers-les-plus-frequents/Cancer-du-sein>
101. Defossez G, Le Guyader-Peyrou S, Uhry Z, Grosclaude P, Colonna M, Dantony E, et al. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018. Volume 1 – Tumeurs solides. Saint-Maurice (Fra) : Santé publique France. 2019;1:372.
102. Body G, Deffieux X, Deruelle P, Graesslin O, Huissoud C, Riethmuller D, et al. *Gynécologie, obstétrique*. 2018.
103. Bellesoeur A, Cabel L, Hutt É, Moustarhfir M, Kurtz J-E. *Cancérologie*. Paris: Éditions Vernazobres-Gregu; 2016.
104. Institut National du Cancer. Le programme de dépistage organisé [Internet]. [cité 2 avr 2020]. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Depistage-et-detection-precoce/Depistage-du-cancer-du-sein/Le-programme-de-depistage-organise>
105. Higa GM, Fell RG. Sex Hormone Receptor Repertoire in Breast Cancer. *International Journal of Breast Cancer*. 2013;2013:1-14.
106. HAS Service des maladies chroniques et dispositifs d'accompagnement des malades, INCa Département des recommandations pour les professionnels de santé. Guide – Affection Longue Durée. Tumeur maligne, affection maligne du tissu lymphatique ou hématopoïétique. Cancer du sein [Internet]. 2010. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/plugins/ModuleXitiKLEE/types/FileDocument/doXiti.jsp?id=c_927249
107. ONCORIF. Anticancéreux oraux : fiches patient et fiches professionnel [Internet]. [cité 17 avr 2020]. Disponible sur: https://www.oncorif.fr/professionnels/anticancereux_oraux/
108. Institut National du Cancer. Les traitements des cancers du sein. 2013. (Collection Guides patients Cancer info).

109. e-Vidal [Internet]. eVIDAL version 3. [cité 16 avr 2020]. Disponible sur: <https://evidal.vidal.fr/>
110. Li Y, Meeran SM, Patel SN, Chen H, Hardy TM, Tollefsbol TO. Epigenetic reactivation of estrogen receptor- α (ER α) by genistein enhances hormonal therapy sensitivity in ER α -negative breast cancer. *Mol Cancer*. 2013;12(1):9.
111. Helferich WG, Andrade JE, Hoagland MS. Phytoestrogens and breast cancer: a complex story. *Inflammopharmacol*. oct 2008;16(5):219-26.
112. Dagdemir A, Durif J, Ngollo M, Bignon Y-J, Bernard-Gallon D. Histone lysine trimethylation or acetylation can be modulated by phytoestrogen, estrogen or anti-HDAC in breast cancer cell lines. *Epigenomics*. févr 2013;5(1):51-63.
113. Möller FJ, Pemp D, Soukup ST, Wende K, Zhang X, Zierau O, et al. Soy isoflavone exposure through all life stages accelerates 17 β -estradiol-induced mammary tumor onset and growth, yet reduces tumor burden, in ACI rats. *Arch Toxicol*. août 2016;90(8):1907-16.
114. Filardo EJ. Epidermal growth factor receptor (EGFR) transactivation by estrogen via the G-protein-coupled receptor, GPR30: a novel signaling pathway with potential significance for breast cancer. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. févr 2002;80(2):231-8.
115. Zhang XT, Kang LG, Ding L, Vranic S, Gatalica Z, Wang Z-Y. A positive feedback loop of ER- α 36/EGFR promotes malignant growth of ER-negative breast cancer cells. *Oncogene*. févr 2011;30(7):770-80.
116. Shike M, Doane AS, Russo L, Cabal R, Reis-Filo J, Gerald W, et al. The Effects of Soy Supplementation on Gene Expression in Breast Cancer: A Randomized Placebo-Controlled Study. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*. 4 sept 2014;106(9):12.
117. Dong J-Y, Qin L-Q. Soy isoflavones consumption and risk of breast cancer incidence or recurrence: a meta-analysis of prospective studies. *Breast Cancer Res Treat*. janv 2011;125(2):315-23.
118. Lee S-A, Shu X-O, Li H, Yang G, Cai H, Wen W, et al. Adolescent and adult soy food intake and breast cancer risk: results from the Shanghai Women's Health Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1 juin 2009;89(6):1920-6.
119. Messina M, Hilakivi-Clarke L. Early Intake Appears to Be the Key to the Proposed Protective Effects of Soy Intake Against Breast Cancer. *Nutrition and Cancer*. 16 nov 2009;61(6):792-8.
120. Vergne S, Sauvant P, Lamothe V, Chantre P, Asselineau J, Perez P, et al. Influence of ethnic origin (Asian v. Caucasian) and background diet on the bioavailability of dietary isoflavones. *Br J Nutr*. déc 2009;102(11):1642.
121. Power KA, Saarinen NM, Chen JM, Thompson LU. Mammalian lignans enterolactone and enterodiol, alone and in combination with the isoflavone genistein, do not promote

- the growth of MCF-7 xenografts in ovariectomized athymic nude mice. *Int J Cancer*. 1 mars 2006;118(5):1316-20.
122. Sturdee W, Panay N. Recommandations pour la prise en charge de l'atrophie vaginale post ménopausique. *International Menopause Society*. oct 2010;28.
 123. Haute Autorité de Santé. Traitements hormonaux de la ménopause [Internet]. [cité 2 nov 2020]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/c_1754596/fr/traitements-hormonaux-de-la-menopause
 124. Christin-Maitre S. Quels traitements en cas de bouffées de chaleur gênantes chez une femme ayant une contre-indication au THM ? *LA REVUE DU PRATICIEN*. :2.
 125. Crisafulli A, Marini H, Bitto A, Altavilla D, Squadrito G, Romeo A, et al. Effects of genistein on hot flushes in early postmenopausal women: a randomized, double-blind EPT- and placebo-controlled study.: *Menopause*. juill 2004;11(4):400-4.
 126. Carmignani LO, Pedro AO, Costa-Paiva LH, Pinto-Neto AM. The effect of dietary soy supplementation compared to estrogen and placebo on menopausal symptoms: A randomized controlled trial. *Maturitas*. nov 2010;67(3):262-9.
 127. Li L, Lv Y, Xu L, Zheng Q. Quantitative efficacy of soy isoflavones on menopausal hot flashes: Efficacy of soy isoflavones on hot flashes. *British Journal of Clinical Pharmacology*. avr 2015;79(4):593-604.
 128. Chen M, Lin C, Liu C. Efficacy of phytoestrogens for menopausal symptoms: a meta-analysis and systematic review. *Climacteric*. 4 mars 2015;18(2):260-9.
 129. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to soy isoflavones and maintenance of bone mineral density (ID 1655) and reduction of vasomotor symptoms associated with menopause (ID 1654, 1704, 2140, 3093, 3154, 3590) (further assessment) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal* [Internet]. [cité 1 nov 2020];(2012;10(8):2847). Disponible sur: <https://data.europa.eu/doi/10.2903/j.efsa.2012.2847>
 130. Marie P. Différenciation, fonction et contrôle de l'ostéoblaste. *médecine/sciences*. déc 2001;17(12):1252-9.
 131. Baron R. L'ostéoclaste et les mécanismes moléculaires de la résorption osseuse. *médecine/sciences*. déc 2001;17(12):1260-9.
 132. Sugimoto E, Yamaguchi M. Stimulatory effect of Daidzein in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Biochem Pharmacol*. 1 mars 2000;59(5):471-5.
 133. Blair HC, Jordan SE, Peterson TG, Barnes S. Variable effects of tyrosine kinase inhibitors on avian osteoclastic activity and reduction of bone loss in ovariectomized rats. *J Cell Biochem*. 15 juin 1996;61(4):629-37.
 134. Pawlowski JW, Martin BR, McCabe GP, McCabe L, Jackson GS, Peacock M, et al. Impact of equol-producing capacity and soy-isoflavone profiles of supplements on bone

- calcium retention in postmenopausal women: a randomized crossover trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1 sept 2015;102(3):695-703.
135. Wu J, Oka J, Ezaki J, Ohtomo T, Ueno T, Uchiyama S, et al. Possible role of equol status in the effects of isoflavone on bone and fat mass in postmenopausal Japanese women: a double-blind, randomized, controlled trial. *Menopause*. sept 2007;14(5):866-74.
 136. Toth MJ, Tchernof A, Sites CK, Poehlman ET. Effect of menopausal status on body composition and abdominal fat distribution. *Int J Obes Relat Metab Disord*. févr 2000;24(2):226-31.
 137. Javed AA, Mayhew AJ, Shea AK, Raina P. Association Between Hormone Therapy and Muscle Mass in Postmenopausal Women: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open*. 02 2019;2(8):e1910154.
 138. Samaras K, Hayward CS, Sullivan D, Kelly RP, Campbell LV. Effects of postmenopausal hormone replacement therapy on central abdominal fat, glycemic control, lipid metabolism, and vascular factors in type 2 diabetes: a prospective study. *Diabetes Care*. sept 1999;22(9):1401-7.
 139. Ghazanfarpour M, Sadeghi R, Roudsari RL. The application of soy isoflavones for subjective symptoms and objective signs of vaginal atrophy in menopause: A systematic review of randomised controlled trials. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 17 févr 2016;36(2):160-71.
 140. Hanachi P, Golkho S. Assessment of Soy Phytoestrogens and Exercise on Lipid Profiles and Menopause Symptoms in Menopausal Women. *Journal of Biological Sciences*. 1 avr 2008;8(4):789-93.
 141. Kotsopoulos D, Dalais FS, Liang YL, McGrath BP, Teede HJ. The effects of soy protein containing phytoestrogens on menopausal symptoms in postmenopausal women. *Climacteric*. sept 2000;3(3):161-7.
 142. Uesugi T, Toda T, Okuhira T, Chen J-T. Evidence of estrogenic effect by the three-month-intervention of isoflavone on vaginal maturation and bone metabolism in early postmenopausal women. *Endocr J*. oct 2003;50(5):613-9.
 143. Upmalis DH, Lobo R, Bradley L, Warren M, Cone FL, Lamia CA. Vasomotor symptom relief by soy isoflavone extract tablets in postmenopausal women: a multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Menopause*. août 2000;7(4):236-42.
 144. EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS). Risk assessment for peri- and post-menopausal women taking food supplements containing isolated isoflavones: Safety of isoflavones from food supplements in menopausal women. *EFSA Journal*. oct 2015;13(10):4246.

145. Delmas V, Brémond-Gignac D, Clément O, Douard R, Dupont S, Latrémouille C, et al. Toute l'UE 5: anatomie : organisation des appareils et des systèmes : aspects morphologiques et fonctionnels. 2019.
146. Chada M, Průsa R, Bronský J, Kotaska K, Sídlová K, Pechová M, et al. Inhibin B, follicle stimulating hormone, luteinizing hormone and testosterone during childhood and puberty in males: changes in serum concentrations in relation to age and stage of puberty. *Physiol Res.* 2003;52(1):45-51.
147. Nieschlag E, Behre HM, Nieschlag S, éditeurs. Testosterone: action, deficiency, substitution. 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2012. 569 p.
148. Encha-Razavi F, Escudier E. Anatomie et histologie de l'appareil reproducteur et du sein: organogenèse, tératogenèse. Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson; 2012.
149. Clairambault P, Manaranche R, Saint-André P-A, Tranier M. MAMMIFÈRES. In: *Encyclopædia Universalis* [Internet]. [cité 14 oct 2020]. Disponible sur: <http://www.universalis-edu.com/encyclopedie/mammiferes/>

Tables des annexes

| | |
|--|-----|
| ANNEXE 1 - DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE DES APPAREILS REPRODUCTEURS (36) | 130 |
| ANNEXE 2 - APPAREIL REPRODUCTEUR MASCULIN (36) | 132 |
| ANNEXE 3 - LA SPERMATOGENESE : PRODUCTION DES GAMETES MALES (36) | 135 |
| ANNEXE 4 - BIOSYNTHESE DES HORMONES SEXUELLES CHEZ L'HOMME | 139 |
| ANNEXE 5 - APPAREIL REPRODUCTEUR FEMININ (36) | 141 |
| ANNEXE 6 - L'OVOGENESE (36) | 143 |
| ANNEXE 7 - BIOSYNTHESE DES HORMONES SEXUELLES CHEZ LA FEMME (36,37) | 146 |
| ANNEXE 8 - LE CYCLE MENSTRUEL (36,37,102) | 151 |
| ANNEXE 9 - LA PUBERTE (36,102) | 153 |
| ANNEXE 10 - CYCLE DE REPRODUCTION DES MAMMIFERES, DONT LE RAT (149) | 155 |
| ANNEXE 11 - EXEMPLES D'ASPECTS CLINIQUES RETROUVEES CHEZ DES PATIENTES ATTEINTES DE CANCER DU SEIN. (102) | 156 |
| ANNEXE 12 - DESCRIPTIONS DU DIAGNOSTIC PAR IMAGERIE DU CANCER DU SEIN. (102) | 157 |
| ANNEXE 13 - TABLEAU PRESENTANT LES CRITERES PERMETTANT LA STADIFICATION TNM DU CANCER DU SEIN | 160 |
| ANNEXE 14 - TABLEAU PRESENTANT LES PRINCIPAUX EI DES MEDICAMENTS DE L'HORMONOTHERAPIE, ET LES CONSEILS ASSOCIES | 161 |

Annexe 1 - Développement embryonnaire des appareils reproducteurs (36)

Les deux premières semaines du développement embryonnaire correspondent à la période qui débute avec la fécondation (rencontre de l'ovocyte et du spermatozoïde aboutissant au zygote) et qui s'achève avec l'implantation ou la nidation de l'œuf dans l'endomètre.

Cette période correspond aussi à la 2^{ème} phase du cycle menstruel.

Après la fécondation, et durant la 1^{ère} semaine du développement, l'œuf est libre et se déplace dans la trompe en direction de la cavité utérine, correspondant à la migration tubaire. Cette période est appelée période pré-implantatoire ou vie libre. A ce moment-là, la mère ne présente aucun signe de grossesse, tant clinique que biologique, et sous l'influence de la progestérone, le liquide utérin s'enrichit en produit de sécrétion indispensable à l'évolution du zygote.

Une fois la cavité utérine atteinte, le zygote divague environ 2 jours puis s'implante lors de la 2^{ème} semaine dans la muqueuse utérine.

Du point de vue hormonal, la 2^{ème} semaine de développement est marquée par une sécrétion croissante d'estrogènes et de progestérone. Alors que dans un cycle hormonal sans fécondation, elle serait en train de décliner.

Les estrogènes et plus particulièrement l'œstradiol, rendent le blastocyte apte à s'implanter en induisant l'expression de molécules d'adhérence à la surface de sa membrane plasmique. Puis les estrogènes, la progestérone et l'hormone gonadotrope chorionique (HCG) modulent la synthèse et l'activation de facteurs permettant la progression du blastocyte dans le tissu conjonctif de l'endomètre. Elle empêche aussi la destruction du corps jaune (source de $17\beta E$ et de progestérone) par la prostaglandine $PGF2\alpha$.

Les taux de sécrétion de FSH et LH ne sont pas différents de ce qu'ils sont en 2^{ème} phase d'un cycle hormonal sans fécondation.

Dès le début de l'implantation, les cellules du blastocyte sécrètent des quantités croissantes d'HCG, responsable de la transformation du corps jaune en corps jaune gravidique ou de grossesse.

Le corps jaune augmente alors de volume et sécrète de plus en plus d'estrogènes et de progestérone.

Ces hormones assurent l'intégrité de l'endomètre, évitent la menstruation, et permettent une bonne nidation.

Lors de la 3^{ème} semaine de développement, la future mère remarque l'absence de menstruation et présente les premiers signes de grossesse.

Cette semaine est également marquée par le phénomène de gastrulation, qui va permettre la mise en place des trois feuillets définitifs de l'embryon qui va se transformer en embryon tridermique. Ces trois feuillets définitifs correspondent à :

- l'ectoderme ou ectoblaste (feuillet superficiel) ;
- le mésoderme ou mésoblaste (feuillet moyen) ;
- l'entoderme ou entoblaste (feuillet profond).

A partir de ces feuillets, la quasi-totalité des organes et des tissus de l'embryon puis du fœtus vont pouvoir se différencier.

Le feuillet qui nous intéresse est le mésoderme car il donne :

- Un mésoblaste para-axial, à l'origine de la formation des somites ;
- Un mésoblaste intermédiaire qui donnera les reins avec l'appareil urogénital ;
- Un mésoblaste latéral qui donnera les feuillets somatopleure et splanchnopleure intra embryonnaires qui borderont les cavités naturelles de l'organisme (cavités pleurale, péritonéale, péricardique).

Annexe 2 - Appareil reproducteur masculin (36)

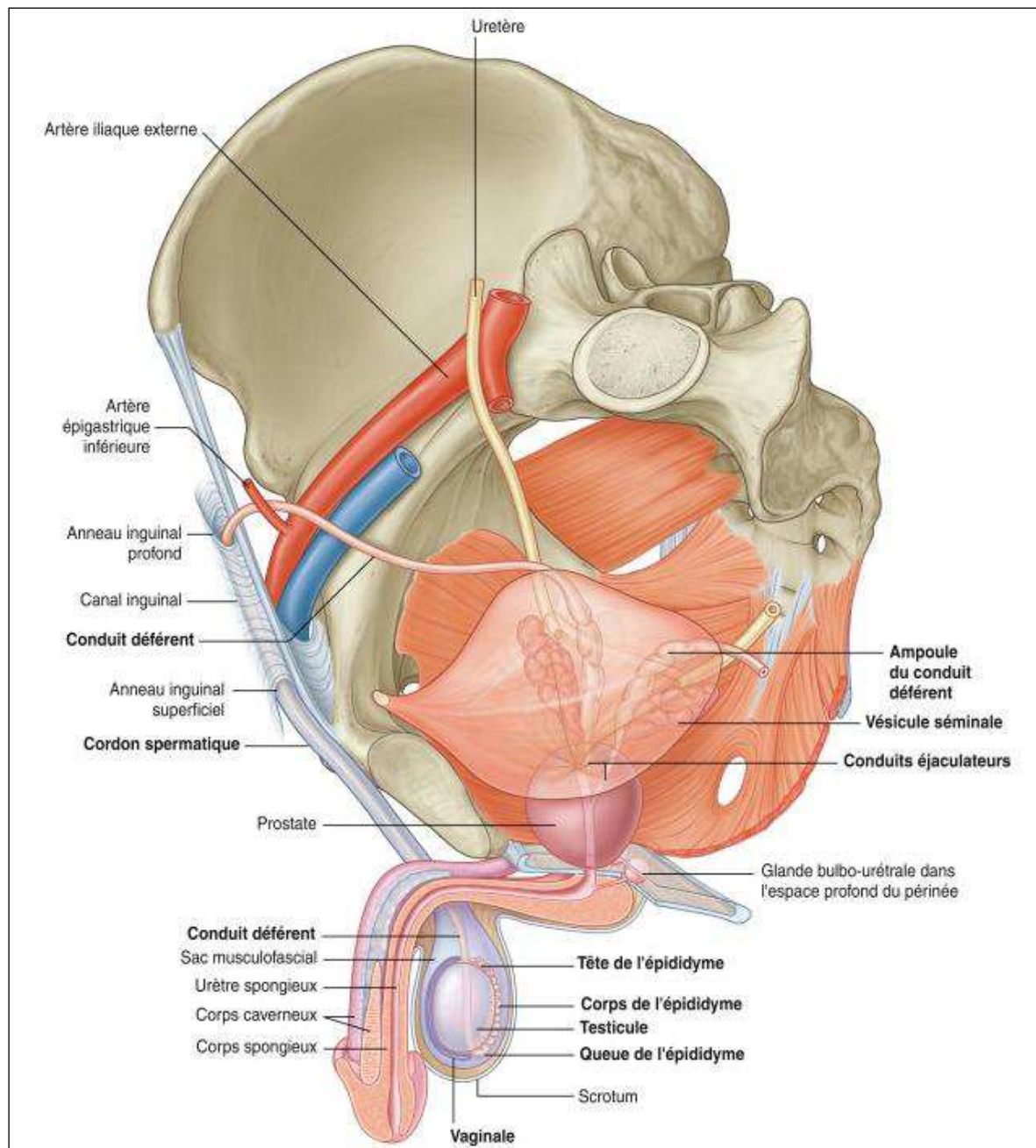


Figure 1 : Schéma de l'appareil génital masculin. (145)

L'appareil génital masculin comporte de chaque côté, un testicule coiffé par l'épididyme, un canal déférent partant du pôle inférieur du testicule et présentant sur sa partie terminale un renflement correspondant à l'ampoule différentielle, sur laquelle s'abouche la vésicule séminale, puis le canal éjaculateur.

Le testicule et l'épididyme

Les testicules sont les gonades mâles qui exercent deux fonctions complémentaires :

- une **fonction exocrine** par la production de spermatozoïdes émis hors de l'organisme dans un liquide de composition complexe appelé le liquide séminal ;

- une **fonction endocrine** avec la production d'hormones sexuelles androgènes, essentiellement la testostérone.

Le testicule est un organe ovoïde entouré par l'albuginée, capsule conjonctive fibreuse peu extensible contenant des cellules musculaires lisses, et qui est épaissie à son pôle supérieur. Partant de cet épaississement et irradiant vers la périphérie, de fines cloisons conjonctives délimitent des **lobules**.

Les lobules sont au nombre de 200 à 300 par testicule, chacun contenant 1 à 3 **tubes séminifères**.

Les tubes séminifères de chaque lobule confluent vers un **tube droit**.

Les tubes droits se jettent dans un réseau appelé le **rete testis**, qui communique avec les voies de sortie du testicule représentées par l'**épididyme**.

L'épididyme est une formation qui coiffe le pôle du testicule et qui présente 3 parties :

- La tête : partie antérieure renflée où se trouvent les **cônes efférents** et le début du canal épидидymaire ;
- Le corps : contient la plus grande partie du canal épидидymaire ;
- La queue : partie distale qui contient la fin du canal épидидymaire et le début du canal déférent.

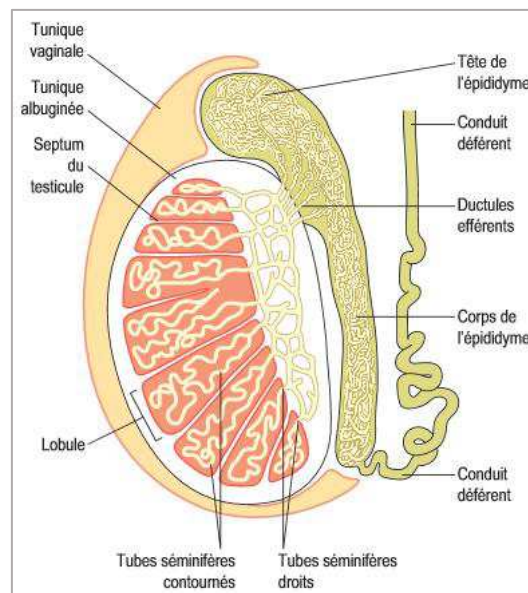


Figure 2 : Coupe longitudinale d'un testicule et du canal déférent. (36)

Les tubes séminifères contiennent au niveau de l'épithélium les cellules de la lignée germinale (les **spermatogonies**) et les **cellules de Sertoli** qui assurent la production et l'excrétion des spermatozoïdes.

Les cellules de la lignée germinales sont organisées en couches (représentant tous les stades de la spermatogénèse que nous verrons par la suite) occupant l'espace situé entre la lame basale et la lumière du tube.

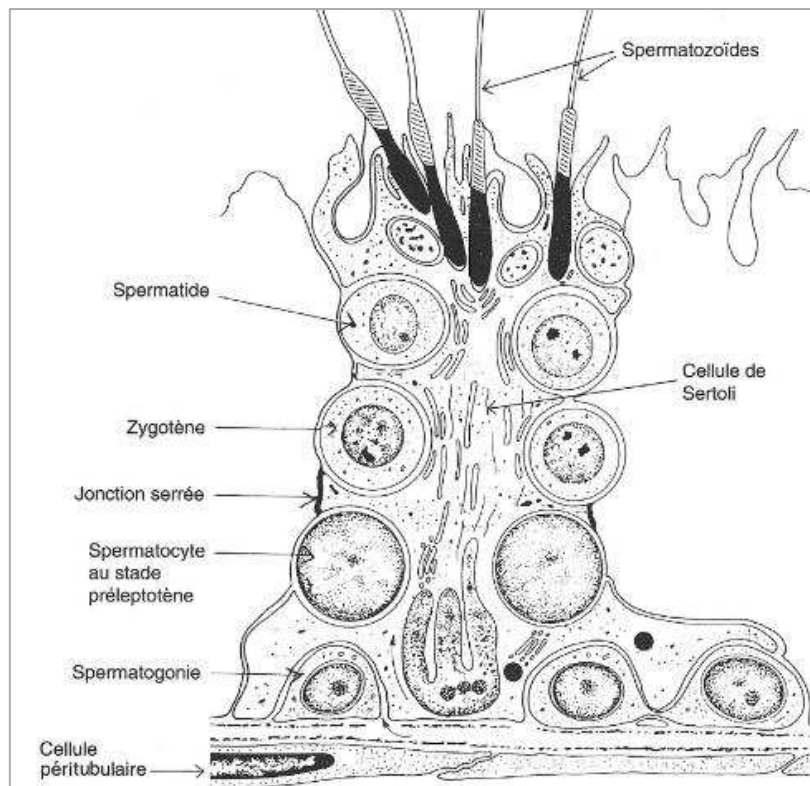


Figure 3 : Aspect d'un tube séminifère en microscopie électronique. (36)

Les cellules de Sertoli possèdent de nombreux prolongements et sont reliées entre elles par des jonctions serrées au niveau des extrémités de leurs prolongements latéraux. Ainsi, elles délimitent dans le tube séminifère deux compartiments distincts :

- un **compartiment basal périphérique** ;
- un compartiment communiquant avec la lumière du tube.

Ces cellules réalisent une **barrière hémato testiculaire** jouant deux rôles :

- elle contrôle le transit des composants du sang vers la lumière du tube ;
- elle protège l'organisme des réactions immunitaires que pourraient induire les spermatozoïdes.

Les cellules de la lignée germinale se trouvent à l'intérieur de ces deux compartiments et sont en relation avec les cellules de Sertoli par divers systèmes de jonctions.

Entre les tubes séminifères se trouvent des **espaces interstitiels** remplis d'un tissu conjonctif lâche riche en capillaires sanguins et lymphatiques. Dans ces espaces, au contact des capillaires sanguins, sont répartis de petits amas de **cellules de Leydig** responsables de la production et de l'excrétion des hormones stéroïdes sexuelles comme la testostérone.

Annexe 3 - La spermatogénèse : production des gamètes mâles (36)

La spermatogénèse regroupe l'ensemble des phénomènes qui aboutissent à partir des cellules souches, les **spermatogonies**, à la formation des **spermatozoïdes** (non féconds à ce moment-là).

Elle dure 74 jours et se déroule dans la paroi des tubes séminifères.

Elle débute à la puberté et va suivre un rythme continu jusqu'à un âge avancé.

L'évolution de la lignée germinale commence par une mitose des spermatogonies disposées à la périphérie de la paroi des tubes séminifères, entre les cellules de Sertoli.

Nous distinguons trois types de spermatogonies selon les caractéristiques de leur chromatine :

- Ad à chromatine sombre : elle assure le renouvellement des cellules souches ;
- Ap à chromatine pâle : cellule initiale de la spermatogénèse à l'origine de la spermatogonie B ;
- B à chromatine en gros grains irréguliers : spermatogonie à l'origine des spermatocytes.

La spermatogonie B qui évolue effectue une nouvelle mitose à l'origine de cellules filles localisées à distance de la lame basale. Elles prennent le nom de **spermatocyte 1**.

Les spermatocytes 1 effectuent une interphase au cours de laquelle ils répliquent leur ADN et entrent en première division de méiose pour donner les **spermatocytes 2**. Ceux-ci déclenchent la seconde division de méiose pour aboutir à la formation de quatre **spermatides haploïdes**.

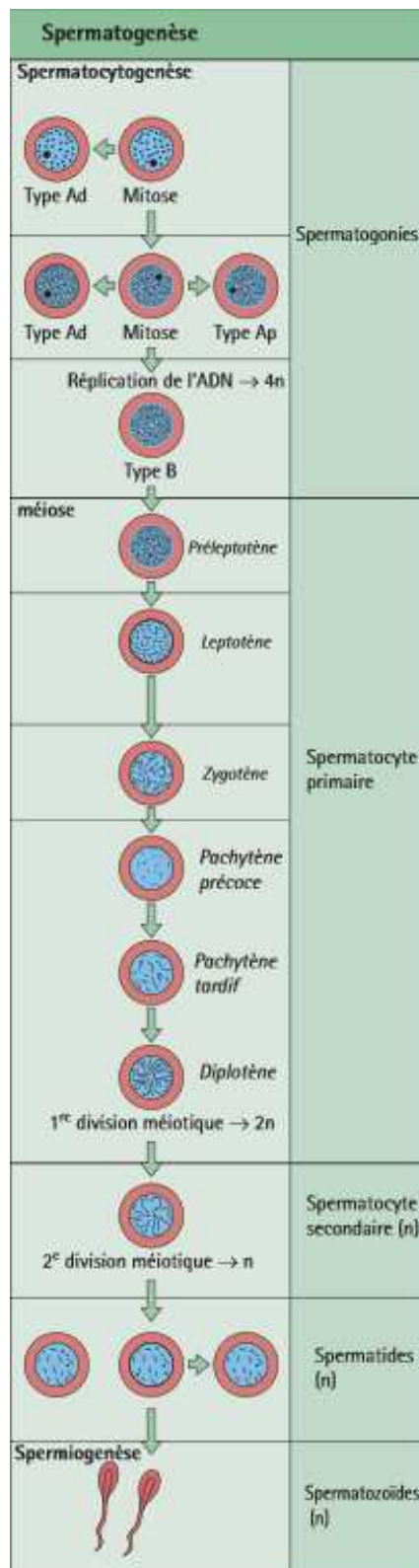


Figure : Schéma explicatif du déroulement de la spermatogénèse. (36)

La **spermiogénèse** est la dernière étape de la spermatogénèse, aboutissant aux **spermatozoïdes** à partir des spermatides. Elle dure environ 23 jours.

Une fois leur formation achevée, les spermatozoïdes perdent leur contact avec la cellule de Sertoli et se retrouvent libres dans la lumière du tube séminifère. Ils sont alors immobiles et non féconds. Leur maturation se poursuit au cours de leur transit dans l'épididyme.

De la lumière du tube séminifère, les spermatozoïdes sont transportés vers l'épididyme véhiculés dans un liquide sécrété par les cellules de Sertoli : **le fluide testiculaire**, très riche en testostérone. Ils sont amenés jusque dans le canal épидидymaire où ils peuvent être stockés dans la queue de l'épididyme. Ce transfert est passif car les spermatozoïdes sont encore immobiles.

Au cours du transit épидидymaire, les spermatozoïdes subissent des modifications qui les rendent partiellement féconds. Elles correspondent à la **maturation épидидymaire**. Ainsi, les spermatozoïdes acquièrent une propriété essentielle : la mobilité.

Dans l'épididyme, ils subissent la **décapacitation** lors de laquelle la membrane plasmique du spermatozoïde subit des modifications qui le rendent provisoirement inapte à la fécondation. Elle subit des changements au niveau de sa composition lipidique, des modifications de la répartition des protéines, l'adjonction de radicaux glucidiques, et l'intégration de nouvelles protéines d'origine épидидymaires qui interviendront dans sa fixation à la membrane ovocytaire permettant la fécondation.

Dans le liquide épидидymaire, les spermatozoïdes peuvent survivre près de 3 semaines. Leur survie est assurée par leur faible métabolisme. En cas de repos sexuel prolongé, les spermatozoïdes sont dégradés.

La description du déroulement de la spermatogenèse montre qu'une spermatogonie engagée dans la spermatogenèse est à l'origine de 16 spermatozoïdes. C'est théorique car en réalité, il y a une perte par apoptose de 30 à 40 % des cellules germinales et cette perte s'accroît avec l'âge. C'est une des causes de la diminution de production de spermatozoïdes. De plus, les spermatozoïdes anormaux se rencontrent fréquemment. Ainsi, dans le sperme des hommes féconds, 25 à 85 % des spermatozoïdes peuvent présenter une morphologie anormale. Les anomalies peuvent concerner la tête ou l'ensemble du flagelle.

Cette production est permanente dès la puberté, est en plein rendement entre 20 et 30 ans, puis diminue progressivement à partir de 50 ans.

Il y a de très nombreuses variantes interindividuelles avec des concentrations en spermatozoïdes qui peuvent aller de 0 à 200 millions/mL. Il existe aussi des variations intra-individuelles avec des concentrations qui vont du simple au quintuple.

La fréquence des cas de non-production de spermatozoïdes (azoospermie) augmente avec l'âge. Elle est de 5% à 30 ans et atteint 50% à 80 ans. Parallèlement, une baisse de la mobilité et du nombre de formes normales sont observées.

Régulation hormonale de la spermatogénèse

La spermatogénèse est soumise à divers systèmes de régulation :

- L'axe hypothalamo-hypophysaire avec la GnRH, FSH/LH et la testostérone ;
- Les facteurs locaux paracrines complexes, tels que l'Androgen Binding Protein (ABP) synthétisé par les cellules de Sertoli sous l'influence de la FSH et médiant l'action locale de la testostérone et de l'androstènedione sur les récepteurs testiculaires aux androgènes ;
- Les estrogènes via les REs.

Avant la puberté, les cellules de Leydig ne sont pas différenciées. A la puberté, la sécrétion de FSH stimule les cellules de soutien des gamètes et la sécrétion de LH pour permettre la production de testostérone indispensable à la spermatogénèse. La FSH est essentielle pour le développement des cellules germinales, notamment pour les premières étapes de la spermatogénèse.

En dehors du système hormonal, de nombreux facteurs physico-chimiques conditionnent la spermatogénèse comme la température. Elle se déroule efficacement uniquement dans le scrotum dont la température est inférieure de 3 à 5 degrés par rapport à la température corporelle. En cas de fièvre prolongée, la spermatogénèse sera prolongée.

Annexe 4 - Biosynthèse des hormones sexuelles chez l'homme

95% de la testostérone circulante est produite par les testicules. Seule la forme libre est active et représente 2-3% de la concentration plasmatique totale.

Pendant la période fœtale, la sécrétion de testostérone augmente nettement entre le troisième et le cinquième mois, lors de la différenciation sexuelle masculine, puis diminue. Peu après la naissance (aux alentours du 4^{ème} mois), un nouveau pic de testostérone est observé suite à une augmentation marquée de la LH (146). Ce pic de testostérone a deux rôles :

- Activer la multiplication des cellules testiculaires de Leydig, de Sertoli et des spermatogonies ;
- La masculinisation subséquente du comportement (39,40).

Vers 11 ans, la sécrétion de testostérone augmente à nouveau, déclenchant la puberté. Puis, après 70 ans, la sécrétion de testostérone décroît, n'entraînant toutefois pas de grandes perturbations au niveau de la fonction spermatogénique, mais pouvant avoir un effet sur la libido.

• Actions spécifiques des androgènes sur la reproduction et la différenciation sexuelle (147)

Pendant la vie fœtale, la formation des organes génitaux mâles internes et externes dépend de la présence de :

- l'hormone antimüllérienne (AMH) sécrétée par les cellules de soutien testiculaire (précurseurs des cellules de Sertoli), permettant la régression du canal de Muller (précurseur de l'appareil génital féminin) ;
- la testostérone, responsable de la différenciation masculine du canal de Wolff, donnant l'épididyme, le canal déférent et la vésicule séminale.

En l'absence de testostérone, le tractus génital évolue sur le mode féminin.

Au moment de la puberté, on observe une augmentation des vésicules séminales, une augmentation de la taille du pénis et une augmentation du larynx, plus spécifiquement de la pomme d'Adam. La testostérone est responsable de la spermatogénèse et joue un rôle important dans la maturation épидидymaire des spermatozoïdes.

La dihydrotestostérone, plus active que la testostérone, est aussi nécessaire pour la différenciation des organes génitaux externes. En effet :

- chez le fœtus, elle est responsable du développement du pénis, du scrotum et de la migration testiculaire vers les bourses (en cas d'anomalie de sécrétion, nous pouvons observer une cryptorchidie uni- ou bilatérale) ;
- à la puberté, elle permet la croissance du scrotum et de la prostate ;
- chez l'adulte, elle est nécessaire au développement de la pilosité (cheveux, poils).

- **Actions sur la croissance et le métabolisme**

Au moment de puberté, la testostérone est responsable du pic de croissance. Elle assure l'ossification des cartilages de conjugaison, signant l'arrêt de la croissance à la fin de la puberté.

La testostérone augmente la masse musculaire en stimulant l'anabolisme protéique.

- **Autres actions**

La testostérone :

- stimule l'érythropoïèse en augmentant l'érythropoïétine ;
- stimule la libido et l'érection ;
- peut être responsable d'un comportement agressif ;
- augmente la sécrétion des glandes sébacées ;
- est responsable de l'arrêt de la croissance mammaire ;
- est responsable, dès la puberté, de la gravité de la voix par action sur le larynx et le pharynx.

Après la puberté, une production d'estrogènes inappropriée provoque le développement des seins ou gynécomastie.

Annexe 5 - Appareil reproducteur féminin (36)

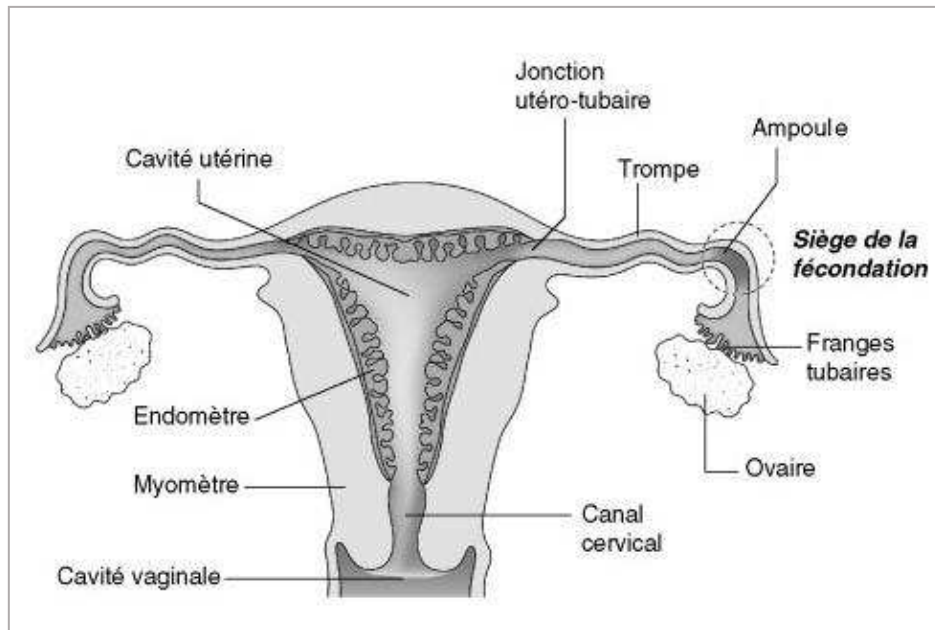


Figure : Schéma de l'appareil génital féminin. (148)

L'appareil génital féminin interne comporte de chaque côté un ovaire et une trompe.

La trompe comprend plusieurs segments :

- Le pavillon (ou infundibulum) à l'extrémité libre, près de l'ovaire, bordé de franges ;
- L'ampoule, partie renflée au niveau supérieur de la trompe, qui s'ouvre au fond du pavillon par l'ostium (orifice de la trompe) ;
- L'isthme ;
- Le segment interstitiel qui s'ouvre dans l'utérus.

L'utérus a une forme de cône aplati à la base supérieure dans lequel se distinguent :

- Le corps de l'utérus qui reçoit les trompes au niveau du bord supérieur ;
- L'isthme ;
- Le col de l'utérus qui s'ouvre dans le vagin.

L'ovaire est la gonade femelle, en forme d'amande qui présente en coupe sagittale :

- une **zone corticale** qui contient les follicules ovariens en cours de maturation, et est le siège de la folliculogénèse.
Le follicule correspond à l'association d'un ovocyte et de cellules satellites (cellules de la granulosa et cellules de la thèque interne).
- une **zone médullaire**, riche en tissu conjonctif lâche, renferme la vascularisation et l'innervation ovarienne.

Les ovaires ont deux fonctions :

- Une fonction exocrine avec la production des gamètes : les ovocytes ;
- Une fonction endocrine avec la production d'hormones sexuelles stéroïdes : les estrogènes (estradiol, estrone, estriol) et la progestérone

Les fonctions sont assurées de façon cyclique entre la puberté et la ménopause, liée à l'évolution du follicule ovarien.

Annexe 6 - L'ovogénèse (36)

Elle correspond à la fonction exocrine de l'ovaire, aboutissant à la production des gamètes femelles : les **ovocytes**.

Contrairement à la spermatogénèse, l'ovogénèse est longue car elle dure plusieurs décennies.

Elle débute dans l'ovaire fœtal par la multiplication des **ovogonies** (cellules germinales), s'arrête pendant plusieurs années puis reprend à la puberté de façon cyclique pour s'arrêter temporairement en cas de fécondation. De la puberté à la ménopause, l'ovogénèse assure la production d'un gamète fécondant, l'**ovocyte**, une fois tous les 28 jours, devenant l'ovule s'il est fécondé.

Les ovogonies prolifèrent dès le troisième mois de la vie embryonnaire et donnent les **ovocytes 1** qui débutent la prophase de la méiose 1 et s'arrêtent à ce stade. Le stock est définitivement formé au septième mois de vie embryonnaire. Chaque ovocyte 1 est entouré d'une couche de cellules épithéliales aplaties, c'est le follicule primordial. Lors de la croissance folliculaire, ces cellules vont évoluer et donner les cellules de la granulosa et les cellules de la thèque interne, dont le rôle principal sera la production des hormones sexuelles.

La croissance folliculaire est un phénomène cyclique et régulier qui gère le capital des ovocytes. Elle se caractérise par le recrutement et la sélection des follicules ovariens qui iront jusqu'à l'ovulation. Le recrutement touche un groupe de follicules pré-antraux qui quittent, par vague successive, la réserve de follicules en croissance. Le nombre de follicules recrutés varie en fonction de l'âge. Le recrutement des follicules se produit au moins trois cycles avant son ovulation (85 jours) et leur développement sont induits par la FSH. Tous les follicules recrutés sont potentiellement aptes à ovuler. Néanmoins, un seul, parvient à maturité (sauf en cas de naissance gémellaire de faux jumeaux, où deux follicules parviennent à maturité), appelé le follicule ovulatoire ou dominant, sélectionné aux alentours du 7^{ème} jour suite à un pic de FSH. Sa maturation correspond aux différents stades de l'évolution folliculaire jusqu'à l'ovulation.

Le follicule dominant est le plus sensible à la FSH car c'est celui qui en exprime le plus de récepteurs, et il est responsable de la sécrétion d'estradiol pendant la deuxième partie de la phase folliculaire, lorsque les cellules de la granulosa (synthétisent l'estradiol) et de la thèque interne (synthétisent la testostérone) apparaissent. A ce moment là, la concentration en FSH diminue suite au rétrocontrôle négatif exercé par l'estradiol produit.

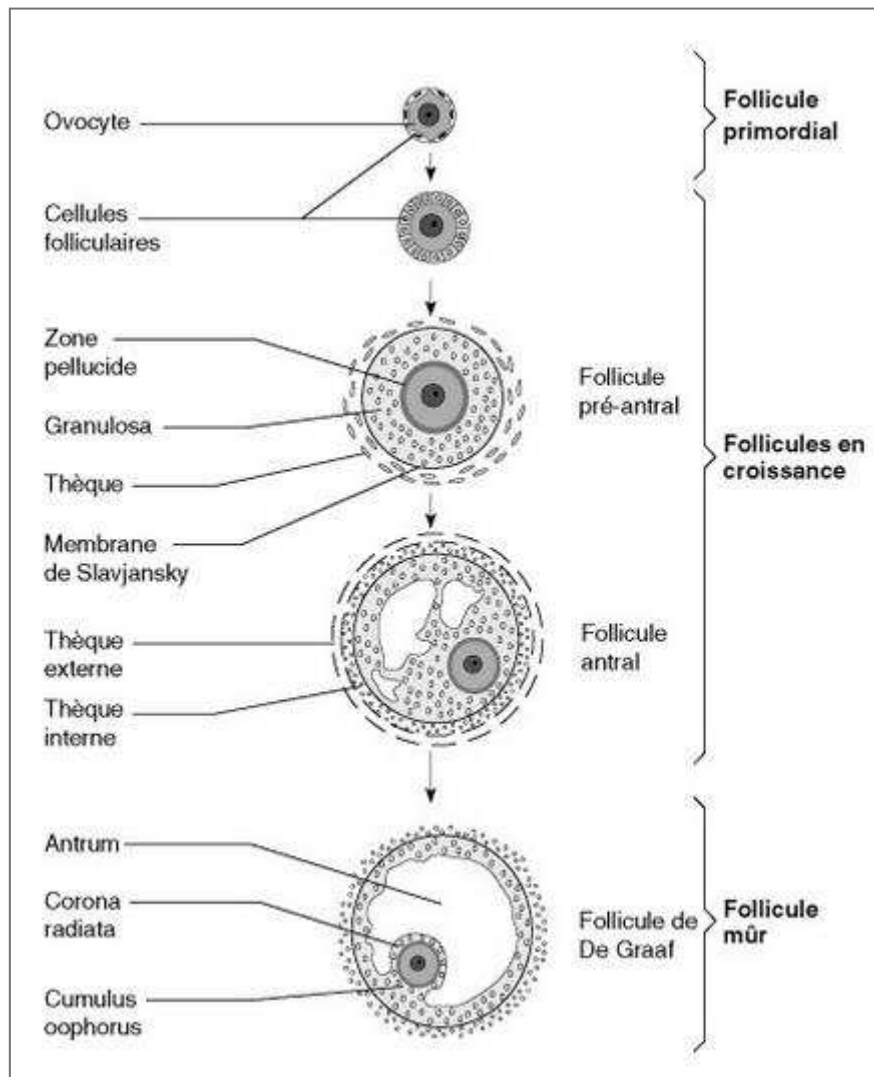


Figure 1 : Schéma de l'évolution des follicules. (148)

Lorsque le follicule dominant est mûr, c'est-à-dire au stade de follicule de De Graaf, celui-ci répond à une décharge d'hormones gonadotropes antéhypophysaires (pic de LH pré-ovulatoire), aboutissant à la rupture du follicule : c'est l'ovulation. L'ovocyte 2 est expulsé avec le cumulus (couronne de cellules de la granulosa). Il achève sa maturation avec une reprise de la méiose jusqu'à la métaphase II.

Après l'ovulation, l'ovocyte et le follicule évoluent séparément.

Pour l'ovocyte, la seconde division ne se poursuit que s'il est fécondé, sinon il dégénère en 24 heures.

L'évolution du follicule de De Graaf aboutit au corps jaune, glande endocrine provisoire composée de :

- grandes cellules lutéales, anciennes cellules de la granulosa, sécrétant la progestérone et l'inhibine ;
- petites cellules lutéales, anciennes cellules de la thèque interne, sécrétant l'estradiol.

En l'absence de fécondation de l'ovocyte, le corps jaune subit une dégénérescence fibrohyaline, aboutissant à la formation du corps albicans ou corps fibreux, 14 jours après sa mise en place. La production lutéale d'estrogènes et de progestérone chute alors brutalement, déclenchant les menstruations 48h plus tard.

En cas de grossesse, le corps jaune persiste, appelé alors corps jaune de grossesse ou gravide, sécrétant les hormones stéroïdes lors des trois premiers mois de grossesse. C'est ensuite le placenta qui prend le relais de la synthèse stéroïdienne, environ 8 semaines après la fécondation.

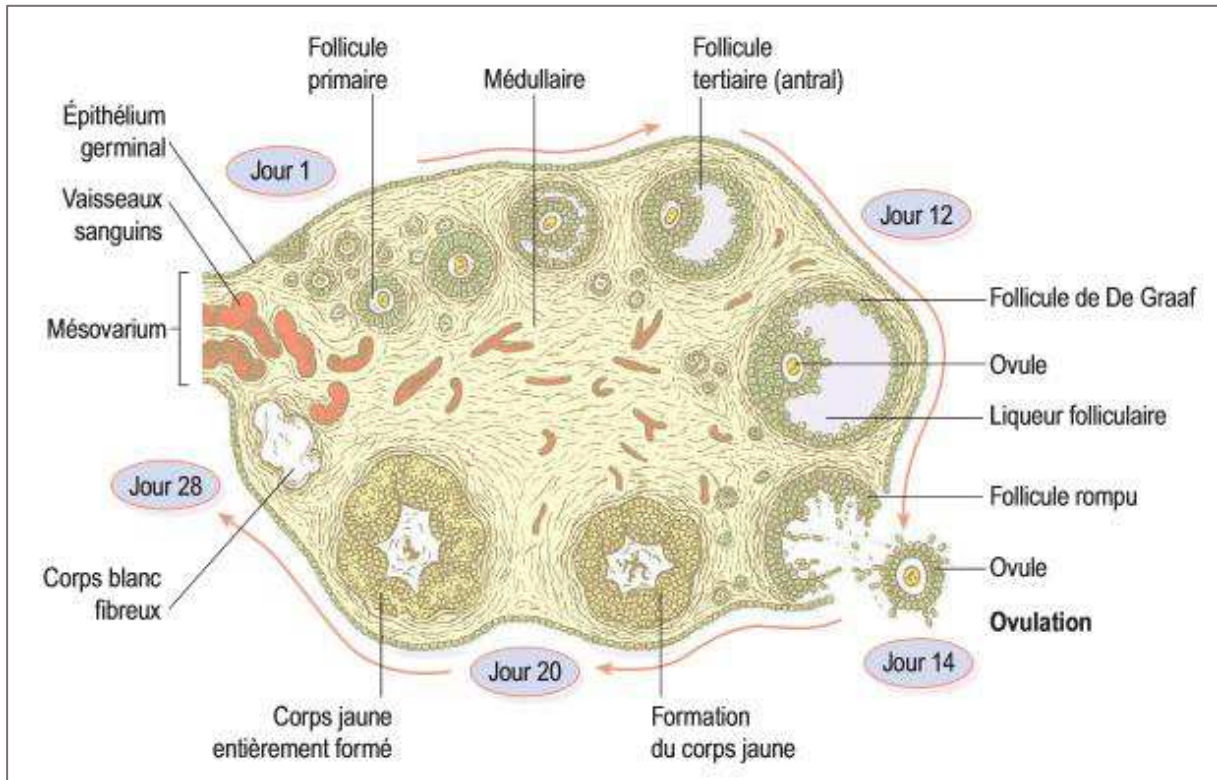


Figure 2 : Coupe d'ovaire avec schématisation du développement des follicules jusqu'à l'ovocyte. (36)

Annexe 7 - Biosynthèse des hormones sexuelles chez la femme (36,37)

La **progestérone** est produite par les cellules ovariennes, les cellules de la granuloza et les cellules de la thèque interne.

Les **estrogènes**, et principalement l'estradiol, sont produits par les cellules folliculaires de la granuloza, possédant l'aromatase et des récepteurs à la FSH, à partir de la testostérone (dont le précurseur est la progestérone) produite par les cellules de la thèque interne, possédant la 17 α -hydroxylase et des récepteurs à la LH.

La synthèse des estrogènes nécessite donc une étroite coopération entre les cellules de la thèque interne et les cellules de la granuloza.

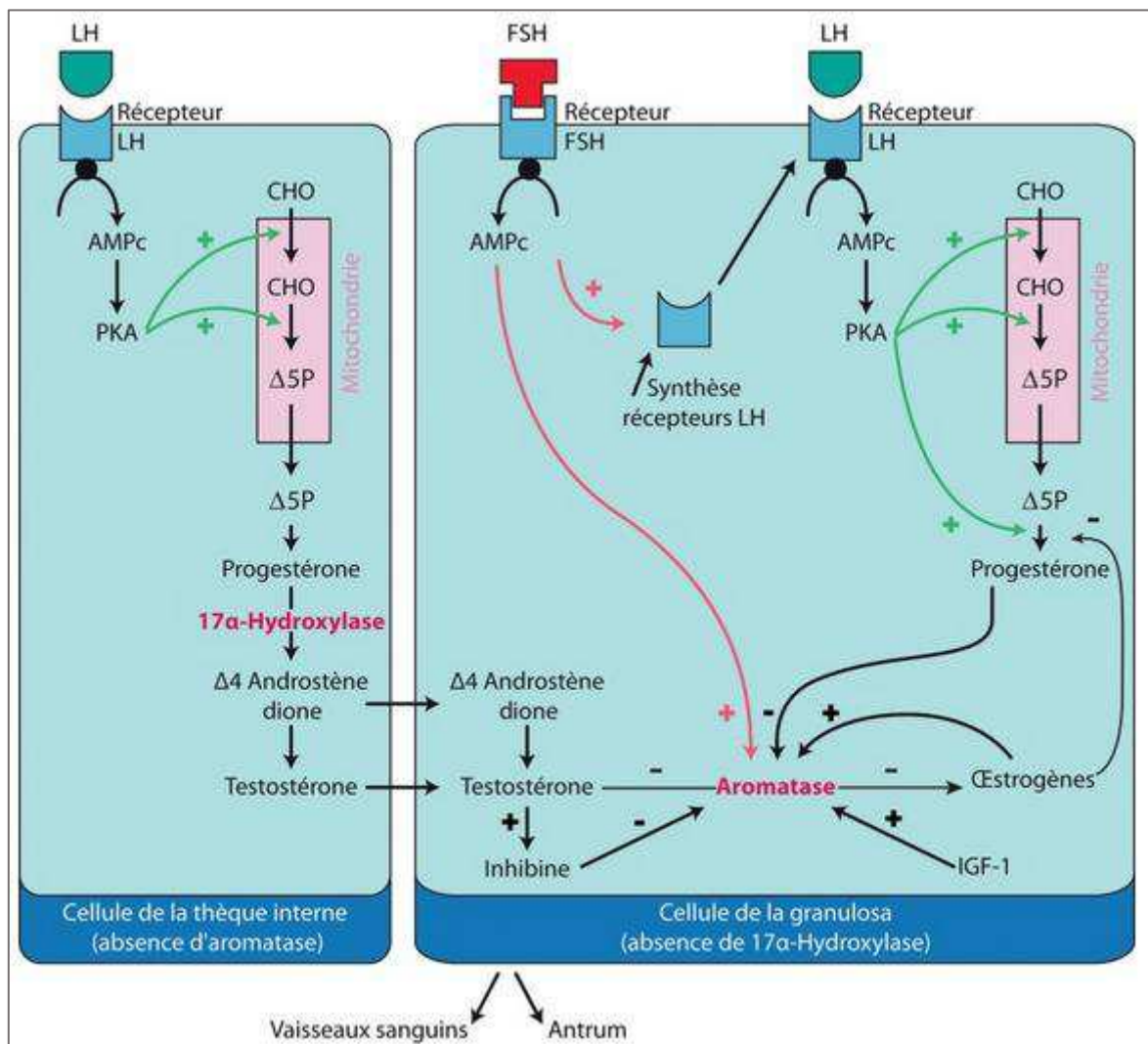


Figure : Schéma de la stéroïdogénèse ovarienne. (36)

L'estradiol et l'estrone sont fortement liés aux protéines plasmatiques, principalement à la Sex Hormone Binding Globulin (SHBG) et en plus faible proportion à l'albumine ayant une faible affinité pour les estrogènes. La forme libre active des estrogènes représente environ 3%.

Les estrogènes ont une action spécifique sur le tractus génital, mais aussi une action extra génitale.

- **Synthèse de l'estradiol chez la femme**

La synthèse de l'estradiol a divers sièges :

- Les ovaires : c'est la source principale d'estrogènes circulants en préménopause ;
- Les glandes surrénales : elles sont, à la ménopause, la principale source d'estrogènes par le biais des androgènes qu'elles produisent ;
- Voie périphérique : Elle est prépondérante chez l'homme et chez la femme ménopausée. La production ovarienne de testostérone ne représente que 25 % des besoins tissulaires. D'autres précurseurs androgéniques (DHA, androstènedione) passent dans les tissus cibles. L'estradiol circulant et le S-DHA traversent la membrane plasmique grâce à un transporteur qui appartient à une famille de système de transport dépendant du sodium. Leur transformation en estrone et DHA par une sulfatase va leur permettre de produire la $17\beta\text{E}$. La testostérone est réduite en dihydrotestostérone (DHT) par la 5α -réductase ou aromatisée en $17\beta\text{E}$ par l'aromatase. La production d'E2 intratissulaire dépendra donc de l'activité relative de ces deux enzymes.

- **Action sur la sphère génitale et mammaire des estrogènes**

Chez le fœtus, les estrogènes maternels n'agissent pas car ils sont piégés par l' α -fœtoprotéine (AFP). En revanche les fœtus mâles et femelles possèdent les récepteurs aux estrogènes. Ils sont donc sensibles à des perturbateurs endocriniens estrogéniques.

Chez les petites filles il n'y a pas de synthèse néonatale (aux alentours de 4 mois) d'hormone gonadotrope et donc pas de synthèse d'œstrogènes. Cela évite la masculinisation de l'ASD-APO.

A la puberté, les estrogènes augmentent brutalement en réponse à une augmentation importante de la FSH. Ils sont alors responsables :

- du développement de la musculature lisse des trompes et de l'utérus ;
- du développement des glandes endométriales qui sont alors non sécrétantes ;
- du développement des petites et des grandes lèvres ;
- du développement des seins et favorisent surtout le développement des canaux galactophores ;
- du développement de la croissance générale de l'organisme et de la distribution des graisses à la poitrine, à l'abdomen, aux hanches et au mont Vénus, ce qui définit la silhouette féminine ;
- ils assurent la prolifération cellulaire de la muqueuse endométriale utérine ;
- ils entraînent la sécrétion d'un mucus plus fluide et plus alcalin au niveau du col utérin, permettant une meilleure survie et un déplacement plus facile des spermatozoïdes ;

- ils augmentent les contractions des trompes et l'excitabilité intrinsèque du muscle utérin, facilitant la récupération de l'ovocyte au moment de l'ovulation ;
- ils entraînent au niveau du vagin un épaissement de l'épithélium tout au long de la phase folliculaire ;
- ils favorisent la production de glycogène dans l'épithélium malpighien, source d'énergie des bacilles de Doderlein (flore saprophyte du vagin) qui le convertissent en acide lactique permettant de conserver un pH vaginal acide important pour réduire les infestations par des germes pathogènes.

- **Actions extra génitales des estrogènes**

Les estrogènes ont diverses actions :

- ils provoquent une rétention d'eau et de sel dans l'organisme ;
- ils agissent sur l'os, d'une part en stimulant l'activité des ostéoblastes et d'autre part en diminuant la sensibilité des ostéoclastes à l'hormone parathyroïdienne. Ainsi s'expliquent doublement l'ostéoporose de la ménopause et son traitement à base d'estrogènes proposé aux femmes ;
- ils agissent sur le métabolisme lipidique en augmentant les concentrations plasmatiques du cholestérol lié aux lipoprotéines de haute densité (HDL) et diminuant celles du LDL-cholestérol, étant un effet bénéfique en termes de risque cardiovasculaire ;
- ils fluidifient les sécrétions des glandes sébacées ;
- ils entraînent une hypercoagulabilité du sang et donc des risques de thromboses veineuses ;
- à forte concentration lors de la grossesse : ils augmentent l'immunotolérance en diminuant la production de cellules du système immunitaire, ils ont un effet vasodilatateur pour faciliter la perfusion du fœtus, un effet métabolique pour permettre une meilleure utilisation des aliments (2/3 en cours de grossesse vs 1/3 en temps normal, correspondant à l'adaptation physiologique à la situation de carence alimentaire) et relaxent la symphyse pubienne pour préparer le corps à l'accouchement.

- **Actions de la progestérone**

La progestérone seule ne déclenche pratiquement aucune action sur la sphère génitale. Il est nécessaire d'avoir une sensibilisation préalable par les estrogènes et une action de la progestérone en coopération avec l'estradiol, car les récepteurs à la progestérone sont des protéines estrogéno-dépendantes.

Au niveau de l'utérus, l'estradiol stimule la synthèse des REs et des récepteurs à la progestérone. Ainsi, après l'ovulation, la progestérone entraîne :

- la formation de la dentelle utérine ;
- l'accumulation de glycogène ;

- la croissance des glandes endométriales ;
- diminue l'excitabilité des cellules de l'endomètre.

Ainsi la progestérone prépare l'endomètre à la nidation de l'ovule fécondé, maintient le myomètre au repos et prévient l'élimination de l'endomètre avant la placentation.

De plus, la progestérone provoque la prolifération des lobules et des alvéoles dans les glandes mammaires, préparant ainsi les seins à la lactation.

- **Variations physiologiques et taux circulants**

- › **Préménopause**

Chez la femme non enceinte, les concentrations plasmatiques d'estrone et d'estradiol varient au cours du cycle menstruel. La quasi-totalité des taux circulants d'estradiol provient de la production ovarienne. Il y a deux pics de sécrétion d'estrogènes : un juste avant l'ovulation et l'autre au cours de la phase lutéale.

Le taux de sécrétion de l'estradiol est de 36 µg/jour au début de la phase folliculaire, 380 µg/jour juste avant l'ovulation et 250 µg/jour en milieu de phase lutéale. Moins de 10 % des estrogènes circulants sont estérifiés avec des acides gras (principalement les HDL). Ces estrogènes lipoides circulent liés aux lipoprotéines. Après leur capture via les récepteurs des lipoprotéines, principalement dans le tissu adipeux, ils sont hydrolysés et peuvent servir au stockage tissulaire des estrogènes. Dans le sang circulant, environ 60 % et 38 % de l'estradiol sont, respectivement, faiblement liés à l'albumine, et étroitement liés à la globuline liant les hormones sexuelles (SHBG). Environ 2 % sont libres.

En revanche, l'estrone et l'estriol sont liés à l'albumine (respectivement environ 80 et 90 %) ou sont sous forme libre (respectivement environ 4 et 8 %).

L'estrone s'élève à plus de 1000 pg/mL en phase folliculaire et au-delà de 1800 pg/ml-L en phase lutéale. Sa forme sulfoconjuguée (S-estrone) représente le réservoir circulant en estrogènes puisqu'il est converti en 17βE dans les tissus cibles. La production de S-estrone est d'environ 100 µg/jour en phase folliculaire et de 300 µg/jour en phase lutéale. Il est lié à l'albumine à plus de 90 %. L'estrone circulant est aussi sous forme glycuconjuguée mais à des concentrations trois à cinq fois plus basses.

Le taux de production d'estriol est respectivement de 14 µg/jour et de 23 µg/jour en phase folliculaire et lutéale. Les concentrations moyennes d'estriol sont de 7 et de 11 pg/mL. Dans le sang, il lie à 90 % l'albumine et 8 % sont sous forme libre ; 1 % est lié à la SHBG.

- › **Grossesse**

Le placenta produit des estrogènes (17βE, estrone) qui passent dans les circulations fœtale et maternelle. La 16α-hydroxylase est absente du placenta qui ne peut former d'estriol. En fin de grossesse, la production de 17βE est d'environ 20 mg/jour.

Dans le compartiment fœtal, la $17\beta\text{E}$ et l'estrone sont convertis en estriol et en estétrol (estrogène seulement produit par le foie fœtal dès la neuvième semaine de grossesse) par le foie fœtal qui possède les enzymes nécessaires : la 15α - et la 16α -hydroxylases.

Dans le compartiment maternel, le taux plasmatique de $17\beta\text{E}$ peut dépasser 27 ng/mL en fin de grossesse. Les estrogènes placentaires non conjugués sont métabolisés comme les estrogènes produits hors grossesse.

Les taux plasmatiques d'estriol sont utilisés pour évaluer la vitalité fœtale. Ils sont de 200–250 ng/ml en fin de grossesse et plus de 90 % sont sous forme conjuguée.

L'estétrol apparaît dans le plasma et les urines de la femme enceinte au premier trimestre et sa concentration s'élève de façon exponentielle pour atteindre 0,5 à 1 ng/mL lors du troisième trimestre.

- **Synthèse des androgènes chez la femme**

L'**androstènedione** est produit par la zone fasciculée de la corticosurrénale (50 %) et par le stroma ovarien. La production journalière est de 1,4-6,2 mg/jour et les taux circulants sont de 0,5–2 ng/mL.

La **déhydroépiandrostérone** (DHA) est produite par la zone réticulée de la corticosurrénale (50 %) et par la thèque ovarienne (20 %). Elle est le principal stéroïde sexuel produit par les glandes surrénales. Elle est principalement sécrétée sous forme de sulfate (S-DHA) à un taux de 3,5-20 mg/jour pendant la vie reproductive. Les taux circulants sont de 1 à 4 $\mu\text{g/mL}$, et s'élèvent de l'adrénarchie à la trentaine, puis diminuent vers l'âge de 50 ans. Les 30 % restants de la production de DHA dérivent du S-DHA circulant par le biais d'une sulfatase présente dans les tissus cibles. Le taux de production est de 6-8 mg/jour et la concentration circulante varie de 1 à 10 ng/mL.

L'ensemble des androgènes surrénaux a une faible activité, mais ils peuvent être convertis en périphérie en testostérone et dihydrotestostérone.

La **testostérone** est synthétisée par la zone fasciculée de la corticosurrénale (25 %) et par le stroma ovarien (25 %). Les 50 % restants sont produits en périphérie via les précurseurs circulants. La production journalière est de 0,1-0,4 mg et les taux circulants sont de l'ordre de 0,2-0,7 ng/mL. Son taux est plus bas lors de la phase folliculaire.

L'aromatase transforme les androgènes en estrogènes. Cette enzyme aromatise la testostérone en $17\beta\text{E}$ et l'androstènedione en estrone.

Annexe 8 - Le cycle menstruel (36,37,102)

Pendant la période d'activité génitale, la production de gamètes et d'hormones qui la conditionne est cyclique.

Le cycle menstruel peut être divisé en deux phases :

- **Le cycle ovarien** est marqué par l'émission d'un seul ovocyte lors de l'ovulation.
- Ce cycle a des répercussions sur la muqueuse utérine dont l'état physiologique subit lui aussi des modifications cycliques marquées en particulier par la menstruation : on parle de **cycle utérin**.

- **Le cycle ovarien**

A partir de la puberté et jusqu'à la ménopause, l'activité des ovaires se déroule selon un rythme cyclique de 28 jours en moyenne. Mais il y a de nombreuses variantes physiologiques qui portent sur la phase pré-ovulatoire, la phase post-ovulatoire ayant physiologiquement une durée invariable de 14 jours.

Le cycle ovarien est divisé en deux phases : la phase pré- et post-ovulatoire. Elles ont un profil hormonal caractéristique reflétant les différentes étapes de la folliculogénèse.

La phase **pré-ovulatoire** correspond à la phase de croissance folliculaire et à une synthèse croissante d'estrogènes sous l'effet stimulant de la FSH.

La phase **post-ovulatoire** correspond à la sécrétion de progestérone. En effet, cette seconde phase correspond à l'apparition du corps jaune synthétisant la progestérone en synergie avec les estrogènes.

- **Le cycle utérin**

En réponse aux variations des hormones ovariennes, l'utérus subit une série de modifications qui définissent le cycle utérin.

L'utérus comporte une épaisse paroi musculaire, le myomètre, ainsi qu'une muqueuse bordant la lumière de la cavité utérine : l'endomètre. Il est constitué d'un tissu conjonctif recouvert d'un épithélium : c'est le tissu cible des hormones ovariennes.

Le cycle utérin est composé d'une **phase de desquamation** ou **phase menstruelle**, d'une **phase proliférative (phase folliculaire)**, et d'une **phase sécrétoire (phase lutéale)**.

La **phase menstruelle** marque le début du cycle. En absence de gestation, la régression du corps jaune provoque une diminution brutale des taux sanguins en estrogènes et en progestérone. L'endomètre, qui s'était développé sous la stimulation de ces hormones, subit une involution.

Puis il est partiellement éliminé : c'est l'hémorragie menstruelle qui dure 5 jours en moyenne.

Après la phase menstruelle, l'endomètre se reconstitue à partir de sa couche basale, en réponse aux estrogènes sécrétés par les follicules pré-antraux. Il s'agit de la **phase proliférative**.

Au cours de cette phase, l'endomètre s'épaissit, les glandes utérines se mettent en place et les artères spiralées vont s'allonger et s'enrouler.

Au cours de la **phase sécrétoire**, les modifications structurales de l'endomètre sont induites par les estrogènes et la progestérone sécrétés par le corps jaune. Nous sommes en période **post ovulatoire**, en phase lutéale.

L'endomètre a atteint son épaisseur maximale. Les glandes utérines deviennent contournées, elles sont riches en glycogène. Les artères deviennent sinueuses, c'est la période optimale pour l'implantation de l'embryon.

Régulation hormonale

Au cours du cycle, la synthèse d'estradiol est d'abord lente et progressive jusqu'au 7^{ème} jour (sécrétion des follicules recrutés en début de cycle). Elle devient plus importante par la suite pour aboutir au pic pré-ovulatoire en fin de phase folliculaire (sécrétion du follicule dominant).

Puis, la sécrétion d'estradiol diminue au moment de l'ovulation, pour reprendre lors de la phase lutéale, sécrétée par les cellules lutéales du corps jaune avec un maximum au 21^{ème} jour, avec une diminution très nette en fin de cycle.

La progestérone ne commence à être sécrétée que par le follicule mûr pré-ovulatoire, à partir du 13^{ème} jour, mais à une faible concentration. Elle est présente en concentration importante dans le sang pendant la phase lutéale, lorsqu'elle est sécrétée par le corps jaune, le maximum étant atteint au 21^{ème} jour.

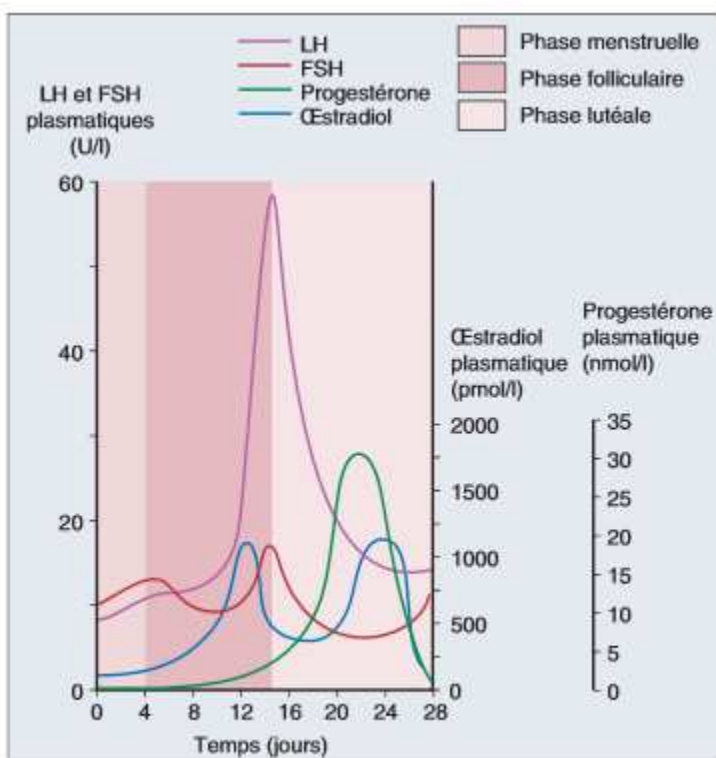


Figure : variations des concentrations plasmatiques des gonadotrophines hypophysaires, de l'estradiol et de la progestérone au cours du cycle menstruel. (36)

Annexe 9 - La puberté (36,102)

La puberté est définie par l'ensemble des manifestations cliniques et biologiques menant de la quiescence infantile à la capacité reproductive.

En d'autres termes, il s'agit de la période de transition entre l'enfance et l'âge adulte. Dans l'espèce humaine, elle dure en moyenne 4 ans. Elle comprend le développement des caractères sexuels secondaires, l'acquisition des fonctions de reproduction, l'accélération de la vitesse de croissance, l'augmentation de l'index de corpulence et s'accompagne de modifications psychologiques.

La puberté est la conséquence du réveil de l'axe gonadotrope, qui se compose des neurones GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone), des cellules antéhypophysaires gonadotropes et des gonades (ovaires, testicules). Cet axe gonadotrope est fonctionnel pendant la vie intra-utérine et pendant quelques semaines après la naissance. Il s'agit de la « mini-puberté ». Pendant l'enfance, l'axe gonadotrope est inhibé. Il se réveille au moment du démarrage de la puberté.

La puberté est la conséquence de la sécrétion pulsatile de la GnRH par des neurones hypothalamiques. La GnRH induit une élévation progressive et initialement de la LH, puis de la LH et FSH qui induisent à leur tour une sécrétion des stéroïdes gonadiques : l'estradiol chez la fille et la testostérone chez le garçon.

L'âge de début de la puberté dépend de facteurs génétiques et environnementaux, principalement la nutrition et la dépense énergétique.

La puberté est dite précoce lorsque les premiers signes de puberté surviennent avant l'âge de 8 ans chez la fille et avant l'âge de 9 ans chez le garçon. Elle est rare puisqu'elle touche environ 0,2% des filles et 0,05% des garçons. Elle est plus fréquente chez les filles.

- ➔ Elle peut être une puberté « vraie » d'origine centrale ou hypothalamo-hypophysaire ou une « pseudo-puberté » d'origine périphérique, soit d'origine gonadique soit surrénalienne.
- ➔ Elle est dite idiopathique dans 90% des cas chez les filles, et elle est pathologique dans 66% des cas chez les garçons.
- ➔ Signes cliniques : accélération de la vitesse de croissance >9cm/an ; augmentation du volume mammaire et/ou apparition de saignements vaginaux chez les filles ; augmentation du volume testiculaire dans certains cas unilatérale chez les garçons.

La puberté est dite avancée lorsqu'elle survient chez les filles entre 8-10 ans et chez les garçons entre 9-11 ans. Elle n'est pas pathologique.

- **Chez la fille**

Le premier signe de puberté est l'augmentation du volume des seins. La thélarche (apparition du bourgeon mammaire) apparaît au stade 2 du développement mammaire, vers 10-11 ans.

Lors de la puberté, la vulve se modifie, elle passe de la position verticale à horizontale, les petites lèvres se développent, le volume clitoridien augmente. Les muqueuses deviennent rosées et sécrétantes. Les leucorrhées apparaissent.

Les premières règles ou ménarche apparaissent en moyenne 18 à 24 mois après le début du développement mammaire (l'âge moyen en France est 12,5 ans). En physiologie, les cycles sont ovulatoires dès la 1^{ère} année après les règles. Mais une irrégularité des cycles lors des 2 premières années après la ménarche est physiologique.

- **Chez le garçon**

Le premier signe est une augmentation du volume testiculaire. Le développement de la taille testiculaire débute en moyenne vers l'âge de 11,5 ans. Un volume testiculaire supérieur à 4mL ou une hauteur supérieure à 2,5cm est en faveur d'un début de puberté. Le volume testiculaire adulte normal est supérieur à 16mL.

NB : la pubarchie (= apparition de la pilosité pubienne) n'est pas un signe de puberté car elle est indépendante des gonadotrophines, elle est liée à la sécrétion surrénalienne appelée adrénarchie.

Annexe 10 - Cycle de reproduction des mammifères, dont le rat (149)

Chez la femelle, l'ovaire connaît une activité cyclique de durée et de fréquence variable au cours de l'année selon les espèces, mais où se succèdent toujours :

- Une phase de repos : anœstrus
- Une phase de maturation des follicules : pro-œstrus
- Une phase de ponte ovulaire : œstrus

L'accouplement ne s'effectue qu'au cours de l'œstrus (certains mammifères n'ont qu'un cycle œstrien par an, d'autres plusieurs au cours d'une période définie de l'année, chez d'autres encore, les cycles se succèdent tout au long de l'année comme chez les primates).

Quelque soit la périodicité de l'œstrus, le rapprochement sexuel est sollicité généralement par des stimuli olfactifs émis par les glandes odorantes des femelles.

Annexe 11 - Exemples d'aspects cliniques retrouvés chez des patientes atteintes de cancer du sein. (102)



Figure 1 : Sein gauche inflammatoire avec augmentation de volume et gonflement, associé à un œdème cutané : signe de la peau d'orange. (25)



Figure 2 : Rétractation cutanée. (25)



Figure 3 : Écoulement sanglant unipore du mamelon. (25)



Figure 4 : Maladie de Paget du mamelon. (25)



Figure 5: Rétractation du mamelon droit chez une femme ayant un cancer du sein droit de localisation centrale, rétroalvéolaire. (25)

Annexe 12 - Descriptions du diagnostic par imagerie du cancer du sein. (102)

La mammographie bilatérale

- Examen réalisé en 1^{ère} intention, c'est l'examen de référence.
- Technique : radiographie (rayons X).
- Elle est réalisée de préférence en 1^{ère} partie du cycle.
- Elle est réalisée dans un cadre de dépistage ou en présence de symptômes.
- Elle permet l'appréciation de la densité mammaire.
- Elle permet une comparaison des 2 seins.
- Elle permet de guider les biopsies ou le repérage de lésions non palpables.
- Les anomalies recherchées peuvent être :
 - une opacité : dense, hétérogène, mal limitée, spiculée, rétractile, avec discordance radio-clinique (taille radiologique < taille clinique), entourée d'un halo d'œdème avec épaissement cutané en regard, avec une rupture architecturale
 - un foyer de microcalcifications : poussiéreuses, irrégulières, en faveur de lésions de carcinome in situ associées
- Les résultats sont exprimés selon la classification ACR : les images suspectes de cancer du sein sont classées ACR 4 ou 5.
- Ses limites : la mammographie manque de sensibilité en cas de seins denses (en particulier chez la femme jeune) et nécessite alors un complément d'imagerie par échographie, plus ou moins une imagerie par résonance magnétique (IRM) complémentaires



Figure 1 : Masse dense à contours irréguliers, avec spicules courts partant du bord de la masse (mammographie). (102)

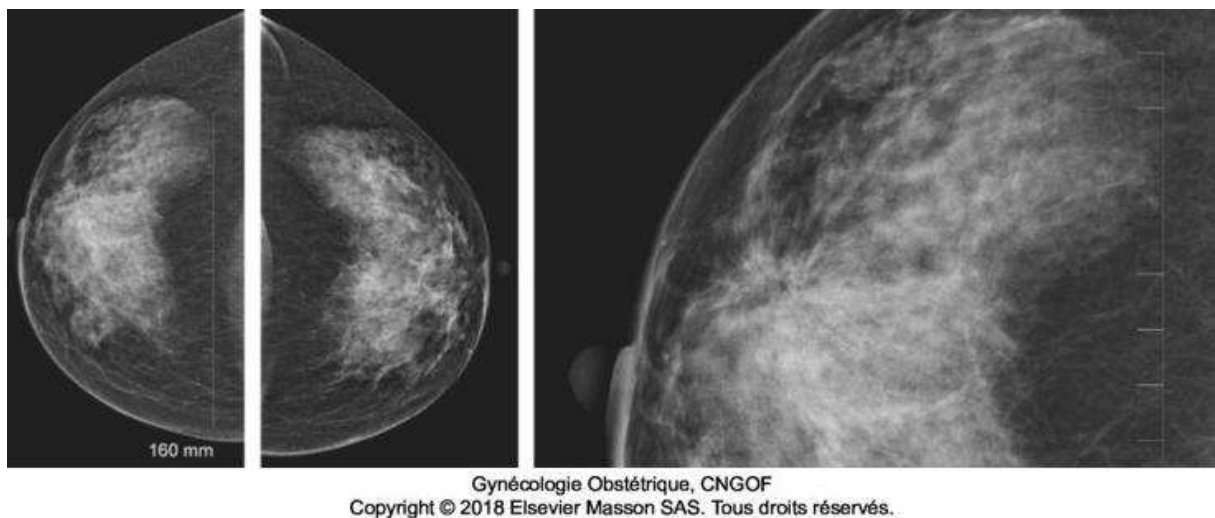


Figure 2 : Aspect de rupture architecturale à la mammographie. (102)

L'Echographie mammaire bilatérale

- Indications : anomalie douteuse à la mammographie, femme jeune avec des seins denses, guider un prélèvement par biopsie.
- En pratique : elle est réalisée en complément de la mammographie pour préciser les caractéristiques d'une anomalie, avec un temps d'exploration axillaire pour préciser le statut ganglionnaire N.
- Réalisée à n'importe quel moment du cycle.
- Elle permet la détermination de la taille de la tumeur et analyse sa structure interne.
- Elle permet de rechercher une autre localisation.
- Description de la forme, des contours et évaluation de l'échogénicité.
- Etude de la vascularisation possible par Doppler et celle de la déformabilité par élastographie.
- Caractéristiques échographiques d'un nodule suspect :
 - irrégulier, mal limité, hétérogène
 - hypoéchogène, avec un aspect en cocarde, à grand axe vertical (perpendiculaire à la peau), avec un cône d'ombre postérieur, sans renforcement postérieurs des échos
 - dissociation clinico-échographique

L'Echographie axillaire

- Réalisée en cas d'adénopathie suspecte.
- Réalisée pour le bilan pré-opératoire.

Si adénopathies suspectes cliniquement, on retrouve des nœuds lymphatiques axillaires augmentés de taille.

L'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) mammaire

- Elle n'est pas réalisée systématiquement, c'est un examen de 2^{ème} intention, réalisé en 1^{ère} partie du cycle ovarien.
- Examen très sensible (>90%) mais peu spécifique (70-85%) surtout chez la femme jeune.
- Elle est indiquée :
 - dans le dépistage des femmes à haut risque (mutation de BRCA1, BRCA2 ou à haut risque génétique familial)
 - bilan complémentaire lorsque l'imagerie standard (mammographie + échographie) ne permet pas de conclure avec certitude à une absence de malignité
 - bilan d'extension si présence d'une tumeur multifocale
 - bilan d'extension dans le cadre d'un carcinome lobulaire invasif
 - si présence d'adénopathies métastatiques du cancer du sein avec un bilan sénologique normal
 - suivi et surveillance des patientes sous chimiothérapie néoadjuvant
 - recherche de récurrence locale après traitement conservateur
 - suspicion de rupture prothétique en cas de reconstitution mammaire par prothèse

Annexe 13 - Tableau présentant les critères permettant la stadification TNM du cancer du sein

Tableau : Classification TNM des cancers du sein. (102)

| Tumeur primaire T | |
|---------------------------------------|---|
| Tx | La tumeur primitive ne peut pas être évaluée |
| T0 | Tumeur primitive non palpable |
| Tis | Carcinome in situ |
| T1 | Tumeur ≤ 2cm |
| | T1mic Micro-invasion ≤ 1mm |
| | T1a 1mm < tumeur ≤ 5mm |
| | T1b 5mm < tumeur ≤ 1cm |
| | T1c 1cm < tumeur ≤ 2cm |
| T2 | 2cm < tumeur ≤ 5cm |
| T3 | Tumeur > 5cm |
| T4 | Tumeur quelle que soit sa taille, avec une extension directe soit à la paroi thoracique (a) soit à la peau (b) |
| | T4a Extension à la paroi thoracique en excluant le muscle pectoral |
| | T4b Œdème (y compris peau d'orange) ou ulcération de la peau du sein, ou nodules de perméation situés sur la peau du même sein |
| | T4c T4a + T4b |
| | T4d Cancer inflammatoire |
| Nœuds lymphatiques régionaux N | |
| Nx | L'envahissement des nœuds lymphatiques régionaux ne peut pas être évalué |
| N0 | Absence d'envahissement lymphonodal |
| N1mi | Micrométastases > 0,2 mm et ≤ 2mm |
| N1 | Adénopathies axillaires homolatérales mobiles |
| N2 | Adénopathies axillaires homolatérales fixées (N2a) ou mammaires internes homolatérales et sans adénopathie axillaire clinique (N2b) |
| N3 | Adénopathies sous-claviculaires et axillaires homolatérales (N3a) ; ou adénopathies mammaires internes et axillaires homolatérales (N3b) ; ou sus-claviculaires (N3c) |
| Métastases à distance M | |
| Mx | Aucune information sur les métastases |
| M0 | Pas de métastases |
| M1 | Métastases à distance (y compris adénopathie sus-claviculaire) |

Annexe 14 - Tableau présentant les principaux EI des médicaments de l'hormonothérapie, et les conseils associés

Tableau : Principaux effets indésirables des médicaments utilisés et conseils associés. (107–109)

| | Effets indésirables | Prévention | Conduite à tenir |
|-------------------|---|--|---|
| Tamoxifène | Bouffées de chaleur | Eviter les déclencheurs : alcool, caféine, chocolat, aliments chauds et épicés, stress, chaleur | Bonne hydratation Rester au frais dès que possible |
| | Nausées, vomissements | Boire entre les repas, éviter les aliments frits, gras ou épicés, manger lentement voire fractionner les repas | Possible traitement antiémétique |
| | Rétention hydrique Accidents thromboemboliques | Surveillance du poids Surveillance médicale accrue si présence de facteurs de risque de thrombose veineuse | Si prise de poids rapide et inattendue : traitement symptomatique par diurétique Arrêt du tamoxifène si thrombose veineuse ou embolie pulmonaire |
| | Myalgies, arthralgies | Eviter la sédentarité, pratiquer une activité physique | Traitement antalgique par paracétamol |
| | Saignements vaginaux, prurit vulvaires, leucorrhées | Examen gynécologique avant initialisation du traitement | Surveillance gynécologique 1 fois par an |
| Létrozole | Bouffées de chaleur | Eviter les déclencheurs : alcool, caféine, chocolat, aliments chauds et épicés, stress, chaleur | Bonne hydratation Rester au frais dès que possible |
| | Céphalées, fatigue | Repos, activité physique légère | Prudence en cas de conduite de véhicule Traitement antalgique si nécessaire par paracétamol |
| | Nausées, vomissement | Boire entre les repas, éviter les aliments frits, gras ou épicés, manger lentement voire fractionner les repas | Possible traitement antiémétique |
| | Constipation | Bonne hydratation, activité physique régulière, éviter la sédentarité, alimentation riche en fibres | Minimum 2L d'eau par jour |
| | Œdème périphérique | Surveillance du poids | Si prise de poids rapide et |

| | | | |
|-------------------|-----------------------------|--|---|
| | | | inattendue : traitement symptomatique par diurétique Risque d'accident thromboembolique (rare) |
| | Risque accru d'ostéoporose | Ostéodensitométrie au début du traitement | Traitement par biphosphonate si nécessaire |
| | Eruptions cutanées | Utiliser un savon doux et un agent hydratant, éviter les expositions au soleil | Une crème hydratante soulage les symptômes |
| Exemestane | Bouffées de chaleur | Eviter les déclencheurs : alcool, caféine, chocolat, aliments chauds et épicés, stress, chaleur | Bonne hydratation Rester au frais dès que possible |
| | Arthralgie, céphalée | Activité physique légère mais quotidienne | Traitement antalgique par paracétamol si besoin |
| | Fatigue, insomnie, vertiges | Repos fréquent, maintien d'un cycle de sommeil régulier | Prudence en cas de conduite de véhicule |
| | Nausées, vomissement | Boire entre les repas, éviter les aliments frits, gras ou épicés, manger lentement voire fractionner les repas | Possible traitement antiémétique |
| | Constipation | Bonne hydratation, activité physique régulière, éviter la sédentarité, alimentation riche en fibres | Minimum 2L d'eau par jour |
| | Diarrhée | Eviter le café, boissons glacées, l'alcool, le lait, les fruits et légumes crus, les céréales et le pain complet | Bonne hydratation quotidienne, privilégier les féculents, les carottes, les bananes Traitement symptomatique en complément si nécessaire |
| | Œdème périphérique | Surveillance du poids | Si prise de poids rapide et inattendue : traitement symptomatique par diurétique Risque d'accident thromboembolique (rare) |
| | Risque accru d'ostéoporose | Ostéodensitométrie au début du traitement | Traitement par biphosphonate si nécessaire |
| | Eruptions cutanées | Utiliser un savon doux et un agent hydratant, éviter les | Une crème hydratante soulage les symptômes |

| | | | |
|--------------------|---|--|--|
| | | expositions au soleil | |
| | Risque d'hémorragie vaginale | | Suivi gynécologique |
| Anastrozole | Bouffées de chaleur | Eviter les déclencheurs : alcool, caféine, chocolat, aliments chauds et épicés, stress, chaleur | Bonne hydratation Rester au frais dès que possible |
| | Nausées, vomissement | Boire entre les repas, éviter les aliments frits, gras ou épicés, manger lentement voire fractionner les repas | Possible traitement antiémétique |
| | Risque accru d'ostéoporose | Ostéodensitométrie au début du traitement | Traitement par biphosphonate si nécessaire |
| | Céphalées, douleurs (surtout dorsale, arthralgies), fatigue | Exercice physique léger régulier, repos | Traitement antalgique si nécessaire (paracétamol) Prudence en cas de conduite de véhicule |
| | Hypercholestérolémie | Attention si présence de pathologie coronarienne avérée ou des facteurs de risque cardiovasculaires | Contrôle lipidique régulier et traitement si besoin selon les recommandations |
| | Risque d'hémorragie vaginale | | Suivi gynécologique |

Titre : Le soja et ses phyto-estrogènes : les impacts sur différentes phases de notre vie

Résumé : Le soja est une légumineuse domestiquée depuis des siècles par la civilisation humaine. Il fait partie intégrante de l'alimentation asiatique et a, depuis plusieurs années, gagné le cœur des occidentaux qui l'ont adapté à leur alimentation. Le soja, en plus d'être nutritionnellement intéressant, contient des isoflavones, qualifiés de phyto-estrogènes car ils ont des similarités avec l'estradiol. Les phyto-estrogènes bioactifs, absorbés via l'alimentation ou des compléments alimentaires, peuvent agir sur notre santé. Mais qu'en est-il vraiment ? De nombreuses études ont déjà été réalisées sur ce sujet, montrant que les phyto-estrogènes auraient un impact sur le développement de l'appareil reproducteur de l'enfant, sur le cancer du sein et la ménopause chez la femme. Ces impacts peuvent être bénéfiques ou délétères et les effets dépendent de divers facteurs. Cette thèse analyse un ensemble d'études afin de faire un état des lieux des connaissances actuelles sur ces impacts. L'objectif final est d'identifier des conseils en nutrition (alimentation ou prise de complément alimentaire) adaptés au profil du patient à prodiguer en officine.

Mots clés : phyto-estrogènes, isoflavones, reprotoxicité, cancer du sein, ménopause

Title : Soy and its phytoestrogens : the impacts on different phases of our lives

Abstract : Soy is a legume that has been domesticated for centuries by the human civilization. It is an integral part of the Asian diet and has, for several years now, been adopted by the Westerners, who included it to their own diet. In addition to being nutritionally interesting, soy contains isoflavones; they are called phytoestrogens because of their similarities with estradiol. Bioactive phytoestrogens are ingested through food or dietary supplements and can affect our health. But what about them ? Many studies have already been carried out on this subject, showing that phytoestrogens might have an impact on the development of children's reproductive system, on breast cancer and menopause in women. These impacts can be beneficial or deleterious, and the effects depend on various factors. This thesis analyzes a set of studies in order to establish a clear picture of current knowledge on these impacts. The final objective is to identify nutritional advice to be given in pharmacies – diet or food supplements – according to the patient's profile.

Keywords : phytoestrogens, isoflavones, reprotoxicity, breast cancer, menopause

Discipline : Sciences Pharmaceutiques

Intitulé et adresse de l'U.F.R. :

Université de Bordeaux
U.F.R. des Sciences Pharmaceutiques
146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux