

Phyto-œstrogènes et santé : bénéfices et inconvénients

RÉSUMÉ

Les phyto-œstrogènes ont d'abord été identifiés dans le trèfle et le soja pour leurs effets perturbateurs endocriniens de la reproduction. Ces molécules sont avant tout des œstrogènes avec des effets utéro-trophiques et font donc proliférer les cellules de l'endomètre possédant des récepteurs des œstrogènes. Depuis leur découverte, les connaissances ont considérablement avancé sur la définition des effets œstrogéniques. On sait aujourd'hui qu'à côté des effets classiques des œstrogènes il existe de nombreuses interactions possibles avec des voies de signalisation mettant en œuvre des protéines membranaires et induisant des cascades de phosphorylations complexes aboutissant à la stimulation de différents activateurs de transcription génique. La liaison aux récepteurs des œstrogènes n'est qu'un aspect à prendre en compte dans l'activité des molécules. La biodisponibilité est un facteur majeur de leurs activités *in vivo*. Les principaux phyto-œstrogènes cités ici sont les isoflavones, les coumestanes, les prényl-flavanones et les lignanes. Ils sont présents dans l'alimentation humaine sous forme d'aliments ou de compléments alimentaires. Bien qu'on ait l'habitude de dire que les Asiatiques ont une forte consommation d'isoflavones, celle-ci reste modérée par rapport à celle que peuvent atteindre des consommateurs occidentaux surconsommateurs de produits végétaux ou de soja. Les expositions prénatales au soja, si elles restent de l'ordre de celles observées en Asie, ne sont pas problématiques. Des doutes peuvent être émis en cas de surconsommation. Les expositions néonatales ne sont pas traditionnelles en Asie. Une surexposition au soja en néonatal des animaux modèles entraîne des effets perturbateurs endocriniens. La prise de soja de façon exclusive avant l'apparition des dents et avant la diversification alimentaire chez le nourrisson est à éviter. Les isoflavones de soja et le soja lui-même ont globalement des effets positifs sur la fonction osseuse abordée par des études *in vitro* ou chez l'animal modèle. Chez l'Homme en revanche, les effets ne sont pas clairement concluants. Les doses dépassent en général celles auxquelles sont confrontés les Asiatiques et on ne peut à ce jour conclure ni sur l'architecture osseuse ni sur le risque fracturaire. D'autres facteurs alimentaires ou d'activité physique sont impliqués de manière tout aussi importante dans la protection osseuse. Les phyto-œstrogènes de soja présentent des effets controversés sur les cancers du sein alors que les données sont plus consensuelles pour les lignanes. Les isoflavones de soja sont à la fois pro-prolifératrices *in vivo* sur cellules saines chez la femme et *in vitro* à des doses biodisponibles sur cellules tumorales. En revanche, elles semblent prévenir la tumorigénèse possiblement par des effets épigénétiques si elles sont consommées dans l'enfance et l'adolescence. La prudence doit donc être de rigueur chez les femmes ménopausées à risque de cancer du sein. Les phyto-œstrogènes de soja semblent avoir des effets pro-mnésiants sous forme d'extraits chez l'Homme. Ces effets sont corroborés par les données *in vitro* et chez l'animal. Pour conclure, il apparaît que le soja doit être considéré comme un « alicament » car il contient des œstrogènes dont la prescription est médicamenteuse. Cela signifie qu'il n'est pas un poison mais doit être utilisé suivant certaines indications et à des doses adéquates. Il doit bénéficier d'une communication adaptée.

Catherine BENNETAU-PELISSERO

Catherine Bennetau-Pelissero est professeur en Sciences Animales et Nutrition-Santé à l'ENITA de Bordeaux (Ecole nationale d'ingénieur des techniques agricoles de Bordeaux). Elle est intégrée pour sa recherche dans l'Unité Inserm U862 du Neurocentre Magendie à l'Université Victor Ségalen, Bordeaux 2 où elle participe aux travaux de l'unité Physiopathologie de la mémoire déclarative.

Catherine Bennetau-Pelissero travaille sur les phyto-œstrogènes depuis 1988. Elle a rédigé en 1996 un rapport sur les phyto-œstrogènes de 117 pages (incluant 229 références bibliographiques) pour le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France. Elle a participé au groupe de travail AFSSA-AFSSAP auteur du rapport « Sécurité et bénéfices des phyto-œstrogènes apportés par l'alimentation - Recommandations » publié par l'AFSSA en mars 2005.

Conférence du 15 avril 2010

La Lettre Scientifique de l'IFN engage la seule responsabilité de son auteur.



INTRODUCTION

Le terme phyto-œstrogène a été employé pour la première fois dans les années 1940 dans le cadre d'une étude du syndrome d'infertilité ovine apparu chez les brebis australiennes (Bennetts *et al.*, 1946). Il a été montré que les brebis paissant des pâtures riches en trèfles rouge, blanc ou souterrain présentaient une baisse de la fertilité, de la prolificité, des chaleurs persistantes, des sécrétions vaginales anormalement abondantes et des défauts d'implantations embryonnaires (Obst et Seamark, 1970 ; Adams, 1990). Ces effets ont été reliés à la présence d'isoflavones dans ces pâtures induisant une perturbation des taux de LH hypophysaires et des taux de progestérone pendant la phase lutéale (Hughes *et al.*, 1991).

Lorsqu'en 1980 on a identifié l'équol et les principales isoflavones du trèfle dans l'urine humaine (Axelson *et al.*, 1982 ; Adlercreutz *et al.*, 1982), on a pu relier leur présence à la consommation de soja. La consommation chez l'homme était évidemment très largement inférieure à celle des brebis. On a alors recherché des effets positifs de ces composés car les données épidémiologiques rapportaient chez les Asiatiques, consommateurs réguliers de soja, des effets positifs de leur régime alimentaire sur leur santé (Nagata, 2000).

Ces données ont révélé une protection contre plusieurs pathologies chroniques estrogéno-dépendantes (Kao & P'eng, 1995). Pour certaines comme l'ostéoporose ou le cancer de la prostate un effet œstrogénique a été proposé (Ganry, 2002 ; Lee *et al.*, 2003). Pour le cancer du sein en revanche un effet anti-œstrogénique a été avancé (Messina *et al.*, 1994).

En 1988, alors que nous recherchions un marqueur du sexe des esturgeons sibériens, nous avons découvert que les mâles et les animaux immatures présentaient de manière tout à fait inattendue des taux circulants très importants d'une protéine hépatique estrogéno-dépendante (Pelissero *et al.*, 1988). Nous avons pu corréliser la présence de cette protéine à la présence de soja dans l'alimentation des poissons (Pelissero¹ *et al.*, 1991 ; Pelissero² *et al.*, 1991). Les truites ne s'avérant pas sensibles au soja dans l'aliment nous avons cherché à comprendre l'origine de cette différence de sensibilité. Nous avons montré qu'elle ne provenait pas de la sensibilité des hépatocytes (Pelissero *et al.*, 1993 ; Bennetau-Pelissero² *et al.*, 1998), ni de celle des récepteurs aux œstrogènes (Bennetau-Pelissero¹ *et al.*, 1998 ; Latonnelle *et al.*, 2000), ni du transport ou de la synthèse des œstrogènes (Pelissero *et al.* 1996 ; Bennetau-Pelissero² *et al.*, 1998). En revanche, nous avons montré que les esturgeons absorbaient beaucoup mieux la génistéine de soja et l'excréaient beaucoup moins bien que la truite

car leurs mécanismes de détoxification étaient basés sur la sulfatation alors que ceux de la truite étaient basés sur la glucuronidation moins spécifique et beaucoup plus efficace (Gontier-Latonnelle *et al.*, 2008). La biodisponibilité s'est donc avérée être le facteur essentiel expliquant la différence de sensibilité entre les deux espèces.

Compte tenu de cet historique nous examinerons ici les effets bénéfiques ou les inconvénients potentiels liés à une consommation de phyto-œstrogènes. Nous limiterons notre propos aux molécules « full agonistes » de l'œstradiol sur la voie d'action génomique ERE dépendante. Ces principaux agonistes de l'alimentation humaine seront évoqués mais la littérature faisant état d'un grand nombre de travaux sur les isoflavones de soja et de données beaucoup plus parcellaires sur les coumestanes, les prényl-flavanones ou les lignanes, l'exposé reflètera ce déséquilibre. Nous limiterons donc notre propos à la définition des phyto-œstrogènes, à leur présence dans les régimes alimentaires occidentaux et asiatiques ainsi qu'à leur biodisponibilité. Les actions des œstrogènes et des phyto-œstrogènes étant ubiquitaires, nous ne pourrions pas aborder ici l'ensemble de leurs effets. Nous avons donc choisi d'évoquer les conséquences avérées ou suspectées d'une exposition aux phyto-œstrogènes en prénatal et néonatal, sur l'os, sur les cancers du sein et enfin sur les processus mnésiques. Nous aborderons ces effets en prenant en compte les données *in vitro*, chez l'animal et chez l'Homme.

DÉFINITION DES PHYTO-ŒSTROGÈNES

Les molécules

Une définition large des phyto-œstrogènes pourrait inclure l'ensemble des molécules naturelles issues de plantes ayant la faculté de moduler l'action des œstrogènes au niveau cellulaire et tissulaire. Pourtant si l'on adoptait cette définition très large, certaines molécules strictement anti-œstrogéniques pourraient être baptisées phyto-œstrogènes. Il faut donc revenir à la définition d'un œstrogène telle qu'avancée par Hertz en 1985 qui dit qu'un œstrogène est une molécule capable d'induire directement un effet utéro-trophique c'est à dire la prolifération des cellules de l'endomètre. Si cette définition s'applique très bien aux molécules endogènes elle trouve ses limites lorsque l'on en vient à considérer une exposition alimentaire. En effet, l'alimentation est capable d'apporter nombre de molécules pro-œstrogéniques qui n'acquièrent leurs activités qu'après métabolisation dans les voies digestives : estomac, intestin, côlon ou foie (Braden *et al.*, 1967, Bowey *et al.*, 2003 ; Possemier *et al.*, 2008). Oublier cette dimension métabolique reviendrait à ignorer plusieurs composés majeurs auxquels les animaux et l'Homme ne sont exposés que par voie alimentaire. Nous

modulerons donc la définition de Hertz en disant qu'un phyto-œstrogène est une molécule capable d'induire un effet utéro-trophique directement ou après métabolisation digestive et ce après une exposition à des doses alimentaires plausibles. Cette définition exclue de fait les composés qui s'avèreraient œstrogéniques parce qu'ils influeraient sur la transmission de l'information œstrogénique (synthèse des œstrogènes, transport des œstrogènes, métabolisme général et/ou cellulaire des œstrogènes, élimination des œstrogènes endogènes). Enfin, certaines molécules de l'environnement sont capables d'une bioaccumulation dans certains tissus notamment adipeux. Ce ne semble pas être le cas des molécules naturelles qui nous intéressent ici (Rowland *et al.*, 2003) ce qui simplifie l'approche ingéré - circulant - effet physiologique.

Les interactions avec les récepteurs des œstrogènes

La nature des effets œstrogéniques s'avère avec le temps et les progrès des connaissances de plus en plus complexe. A côté de la voie génomique classique dépendante des « Estrogen Responsive Elements » (ERE) présents dans la zone promotrice des gènes œstrogéno-dépendants, on a découvert depuis plusieurs années des voies de signalisation complexes et nombreuses (Björnström & Sjöberg, 2005). Si ces voies n'ont été découvertes que secondairement c'est qu'elles présentent généralement un poids relatif inférieur à celui de la voie « classique ». Ces voies deviennent majeures dans certains tissus et avec certains composés particuliers n'induisant que très peu la voie génomique classique. Lorsque ceux-ci n'induisent pas ou très peu la voie génomique classique on peut parler de SERMs alimentaires, SERM pour « Selected Estrogen Receptor Modulators ».

Dans cet exposé, et pour simplifier le propos, nous n'aborderons que les molécules capables d'induire de façon significative un effet génomique ERE-dépendant. Cette définition inclue donc les molécules capables de se lier aux récepteurs des œstrogènes classiques alpha et bêta. Cette liaison entraîne la dimérisation des récepteurs cytoplasmiques, leur adressage nucléaire, leur liaison aux ERE et leur destruction subséquente par les ubiquitines du protéasome (Ramamoorthy & Nawaz 2008). Ces actions génomiques classiques n'empêchent pas l'existence d'autres voies d'action de ces molécules comme des effets anti-protéine tyrosine kinase (Akiyama *et al.*, 1987), anti-angiogénique (Fotsis *et al.*, 1993), anti-ADN topoisomérase (McCabb Jr & Orrenius, 1993), anti-aromatase (Pelissero *et al.*, 1996), anti-5 α réductase (Hiipaka *et al.*, 2002) ou pro-apoptotique (Traganos *et al.*, 1992) même si pour la génistéine de soja (mais aussi des trèfles, luzerne, kudzu...) ces effets sont obtenus à des doses pharmacologiques impos-

sibles à atteindre par une consommation alimentaire. Il faut s'en féliciter car ces mécanismes d'action n'étant pas tissus spécifiques ils pourraient se traduire par une toxicité aigue (s'apparentant à celle des traitements de chimio-thérapie des cancers) s'ils s'avéraient survenir à doses alimentaires.

Si l'on devait classer ces molécules suivant leur œstrogénicité décroissante il faudrait tout d'abord bien définir le système d'évaluation considéré car des variations sont susceptibles d'apparaître suivant qu'on utilise un test *in vivo* (utéro-trophie), un test sur cellules (prolifération des MCF-7 ou sur levures transfectées) ou un test de liaison sur récepteurs solubilisés ou sur protéines recombinantes. Dans ce dernier cas les molécules précédemment citées peuvent être rangées comme suit : coumestrol \geq 8-prényl naringénine > équol > génistéine > daidzéine > entérodiol > entérolactone.

Les sources de phyto-œstrogènes alimentaires

Nous nous intéresserons dès lors aux isoflavones de soja, du trèfle, de la luzerne et du kudzu (pour ne citer que les sources « alimentaires » très riches en ces composés), au coumestrol de la luzerne, à la 8-prényl naringénine (8-PN) du houblon et à l'entérodiol du lin, des céréales, et des fruits et légumes. Pour les isoflavones, leurs présences dans les aliments à base de protéines de soja peuvent varier de quelques mg à 50 mg par portion classique (Bennetau-Pelissero *et al.*, 2003 ; Vergne *et al.*, 2008). Ces aliments sont présents sur le marché agroalimentaire français. De nombreux compléments alimentaires destinés aux femmes ménopausées pour lutter contre les bouffées de chaleurs et autres inconvénients de la ménopause sont préparés à partir d'extraits de soja. Ils peuvent apporter, suivant les préparations, de quelques mg à presque 100 mg d'isoflavones par gélule, comprimé ou autre forme de dosage (Bennetau-Pelissero *et al.*, 2003). Depuis quelques années des compléments alimentaires à base de trèfle, de luzerne ou de houblon sont également disponibles en boutique ou sur internet. Dans la majorité des cas les doses de principes actifs ne sont pas indiquées sur les boîtes. Une consommation plausible d'aliment source de ces molécules serait en tout cas susceptible d'apporter de quelques centaines de microgrammes à quelques milligrammes de lignanes (Nurmi *et al.*, 2010) et environ une centaine de microgrammes de 8-PN (Clarke *et al.*, 2004).

Comparaison Asie versus Occident

Concernant l'apport alimentaire il faut immédiatement préciser les différences qui existent entre les pratiques alimentaires asiatiques et occidentales.

En Asie, l'alimentation est traditionnellement considérée comme un facteur majeur de santé. Cela signifie que les Asiatiques ont une consommation alimentaire globalement raisonnée évitant les excès et suivant des indications précises. Dans la conscience populaire les aliments sont associés à des effets santé bénéfiques et/ou néfastes ; l'exemple du Fugu poisson corallien hautement toxique s'il est mal préparé en est un exemple. Dans ce contexte la consommation de soja, si elle est assez importante relativement à l'Occident, n'en reste pas moins modérée puisqu'on évalue l'ingestion quotidienne d'isoflavones en Chine à environ 25 mg en moyenne (Mei *et al.*, 2001) et au Japon de 45 à 60 mg en moyenne soit une dose ≤ 1 mg/kg/jour (Nagata *et al.*, 2002). Le soja représente moins de 10 % en masse du bol alimentaire, soit en moyenne 60 à 100 grammes par jour (Adlercreutz *et al.*, 1993). Le lait n'étant pas consommé traditionnellement en Asie, le soja est présenté sous forme solide, que ce soit sous forme trempée et pressée (Tofu, Miso et produits dérivés...) ou sous forme fermentée (Tempeh et produits dérivés...). Le mode de préparation traditionnel des produits pressés inclut une étape de cuisson et 7 trempages successifs destinés à éliminer les facteurs anti-nutritionnels présents dans le soja (Li & Hsieh, 2004). Ces 7 trempages contribuent à éliminer une part significative des isoflavones de soja qui sont glycosylées dans la matrice alimentaire (Aderson & Wolf, 1995). La fermentation diminue elle aussi la teneur de la matrice soja en isoflavones (Li & Hsieh, 2004). Enfin, nous avons récemment montré que lors d'ingestions répétées l'absorption des isoflavones chez les Asiatiques ne semblait pas aussi efficace que celle des Occidentaux (Vergne *et al.*, 2009). Les paramètres pharmaco-cinétiques d'élimination directement impactés par les enzymes du métabolisme des xénobiotiques ne semblant pas affectés par la prise répétée, nous avons fait l'hypothèse d'un rôle spécifique, chez les Asiatiques, d'une flore intestinale particulière (Clavel *et al.*, 2005 ; Vergne *et al.*, 2009).

En **Occident**, l'alimentation est généralement considérée comme un plaisir de la vie et cette considération hédonique peut conduire à certains excès. Le soja, non traditionnel dans nos pays, a été promu sous une forme aisément acceptable par les consommateurs à savoir une forme semblable au lait et à tous ses produits dérivés. Les formes liquides se prêtent plus facilement à l'excès que les formes solides. Les « laits » de soja sont obtenus par broyage des graines de soja dépelliculées, élimination des huiles, chauffage, mise en suspension dans l'eau et filtration (Choi & Rhee, 2006). D'autres préparations sont fabriquées à partir de concentrés ou d'isolats protéiques de soja. La préparation des extraits protéiques de soja comporte en plus des étapes supplémentaires de purification douce (filtration) pour préserver la matrice protéique qui est évidemment essentielle. Ces produits sont ainsi débarrassés de leurs facteurs anti-nutritionnels protéiques mais pas de leurs iso-

flavones car celles-ci sont glycosylées dans la matrice soja et adsorbées sur les protéines. Par ailleurs, elles résistent lors des protocoles d'extraction à des chauffages à plus de 100°C pendant plusieurs heures (Murphy *et al.*, 2002). Enfin, d'après nos travaux, une bioaccumulation de la daidzéine est possible en prise répétée chez les Occidentaux alors que ce phénomène n'est pas observé chez les Asiatiques (Vergne *et al.*, 2009). On voit dès lors que parler simplement pour les Asiatiques d'une forte consommation de soja (même si relativement à la nôtre ce qualificatif s'explique) peut conduire à une situation non conforme à celle pratiquée en Asie.

BIODISPONIBILITÉ DES PHYTO-ŒSTROGÈNES

Les différentes familles chimiques

Pour le **coumestrol**, considéré de part son activité œstrogénique intense comme un perturbateur endocrinien, les données chez l'Homme manquent. Chez le rat en revanche Mallis *et al.* (2003) ont montré qu'il était moins biodisponible que la génistéine et la daidzéine, présentant une AUC, et une Cmax de moitié inférieure à celle de la génistéine.

La **8-PN** bien que particulièrement œstrogénique présente une biodisponibilité très faible presque 100 fois inférieure à celle de la génistéine (Rad *et al.*, 2006).

Les **entérolignanes** : entérodol et entérolactone présentent selon Kuijsten *et al.*, (2005) une bonne biodisponibilité comparable à celle de la génistéine.

Les **isoflavones** quant à elles sont particulièrement biodisponibles puisque nos travaux ainsi que ceux d'autres auteurs, ont montré chez l'homme que jusqu'à 80 % de l'ingéré peut être recueilli dans les urines de 48 h (Vergne *et al.*, 2008). Cette biodisponibilité doit varier en fonction des doses mises en œuvre même si les données manquent pour dresser un tableau précis de la situation à ce jour.

Pour l'ensemble de ces composés les formes circulantes sont majoritairement conjuguées (glucuronidées ou sulfatées) (Rowland, 2003) ce qui doit impacter leur action cellulaire même si à ce jour les données ne permettent pas de se faire une idée précise de la situation propre à chaque tissu.

Les cas de surdosages

Comme nous l'avons déjà mentionné, la biodisponibilité d'une molécule est un des facteurs majeurs de son effica-

cité. Les formes particulières sous lesquels sont commercialisés les produits de soja en Occident peuvent conduire à des surexpositions aux isoflavones. Deux cas vont être évoqués ci-dessous : celui de femmes adultes chez qui on a observé des effets néfastes directement liés à une surconsommation de soja et celui des nourrissons nourris avec des préparations à base de soja.

Chez les adultes Chandrareddy *et al.* (2009) rapportent 3 cas de femmes pour qui une surconsommation de soja a entraîné des effets physiologiques néfastes. Il s'agit d'une femme ménopausée (56 ans) et de deux femmes préménopausées de 43 et 35 ans. Toutes annoncent une forte consommation de soja et présentent des fibromes à répétition, plus ou moins importants, des endométrioses et pour les deux femmes pré-ménopausées des menstruations irrégulières, douloureuses et abondantes alors qu'elles sont sous noréthistérone. Pour la plus jeune une infertilité secondaire s'oppose à un désir d'enfant. Dans les 3 cas l'arrêt du soja associé au traitement à la noréthistérone et aux actes chirurgicaux classiques qui étaient jusque là sans effet définitif permet un retour à la normale. Une grossesse est même acquise rapidement chez la plus jeune après arrêt de la contraception.

Parce que Chandrareddy *et al.* (2009) ne précisent pas ce qu'ils entendent par forte consommation de soja nous évoquons ici le cas d'une jeune femme de 31 ans, maman d'une petite fille de 18 mois, traitée à la noréthistérone pour cause de menstruations irrégulières douloureuses et abondantes (observations personnelles). Après quelques mois de traitement efficace, la jeune femme rapporte un retour des menstruations avec son cortège d'ennuis alors qu'elle poursuit son traitement à la noréthistérone. Elle déclare ensuite une consommation de soja montée graduellement en quantité autour du moment où ses menstruations se sont à nouveau manifestées. Dans son cas la consommation de soja déclarée comporte : un yaourt au soja le matin, une crème dessert de soja le soir, des céréales au soja chaque jour, un tofu environ tous les 15 jours mais surtout un litre de Tonyu (« lait » de soja) 2 à 3 fois par semaine lors de matchs ou d'entraînements sportifs. D'après nos mesures dans les aliments et nos calculs, l'exposition aux isoflavones chez cette jeune femme a varié pendant cette période de régime riche en soja d'environ 30 mg (yaourt + crème dessert + céréales) à 135 à 333 mg par jour (yaourt + crème dessert + céréales + tofu + « lait » de soja). En effet, nous avons pu doser les isoflavones dans diverses marques et lots de Tonyu et les doses que nous y avons trouvées variaient de 83 à 280 mg/l. Dans ce cas la quantité d'isoflavones ingérées est 2 à 6 fois supérieure à celle rapportée en moyenne en Asie. Dans ce cas aussi l'arrêt du soja a conduit à un retour à la normale quasi immédiat.

Chez les nourrissons nourris exclusivement aux formules infantiles à base de soja, Badger *et al.* (2002) rapportent que l'exposition aux isoflavones est inversée entre Asiatiques et Occidentaux. En effet, les bébés asiatiques ne sont traditionnellement pas exposés au « lait de soja » puisqu'on l'a dit la consommation traditionnelle porte sur des formes solides qu'on ne peut consommer que si l'on est capable de mâcher. Les bébés asiatiques sont exposés à des doses modérées *in utero* (de l'ordre de 800 nM soit un peu plus de 5 fois la dose d'œstradiol endogène pendant la grossesse) alors que les bébés occidentaux ne le sont pas en général. A la naissance la majorité des petits Asiatiques sont nourris au sein ou avec des formules au lait de vache. Ces deux formules contiennent des doses d'isoflavones faibles (de l'ordre de 25 nM) ce qui entraînent des taux plasmatiques faibles voire indétectables. Progressivement, à l'apparition des dents, entre 6 et 12 mois, le soja solide peut être introduit conduisant à une exposition très progressive aux isoflavones de soja. Dans le cas, en revanche, où un petit Occidental serait exclusivement nourri avec une formule infantile à base de soja dès la naissance et jusqu'à la diversification alimentaire (environ 6 mois) l'exposition pourraient aller de 2 à 9 mg/kg/jour (Rozman *et al.*, 2006) et les taux circulants d'isoflavones pourraient atteindre en moyenne 900 nM et aller pour les formules les plus concentrées jusqu'à 1800 nM. Ceci est 4,5 à 9 fois la concentration mesurée dans le sang des adultes asiatiques.

EFFETS AVÉRÉS OU SUSPECTÉS DES PHYTOESTROGÈNES

Exposition prénatale

Nagata *et al.* (2006) rapportent chez des femmes asiatiques à l'accouchement, dont la prise quotidienne d'isoflavones a été évaluée à 21,4 mg/jour et s'étant prêtées à des prélèvements de sang, de sang de cordon et de liquide amniotique, que les taux d'isoflavones dans ces fluides sont moins de 10 fois supérieurs aux taux d'œstradiol endogènes.

Un rapport d'expert a été publié aux USA par Rozman *et al.* en 2006. Il fait le point sur l'éventuelle toxicité des formules infantiles à base de protéines de soja commercialisées aux USA. Ils rapportent notamment les données d'Adlercreutz *et al.* (1999) qui fixent à environ 250 nM les taux d'isoflavones dans le plasma maternel, le sang de cordon et le liquide amniotique. A l'accouchement les taux d'œstradiol endogènes sont environ 5 fois inférieurs. Chez les occidentaux les taux d'isoflavones dans le liquide amniotique sont de l'ordre de 40 nM d'après Engel *et al.* (2006).

Quels seraient éventuellement les risques encourus au stade fœtal ? Pour le savoir il faut se rapporter aux travaux de Sharpe et Skakkebeck (1993) qui ont cherché à résumer les atteintes possibles liées à un surcroît d'œstrogènes au court de la vie fœtale. Selon leurs travaux on peut s'attendre à une altération des sécrétions de GnRH hypothalamique et consécutivement à une altération des sécrétions de LH et FSH hypophysaires. En conséquence, on peut observer chez les mâles une diminution des sécrétions de testostérone par les cellules de Leydig et d'œstrogènes par les cellules de Sertoli. Celles-ci peuvent entraîner un hypodéveloppement testiculaire, une féminisation du tractus génital par hyposécrétion d'AMH, une altération de la descente des testicules (cryptorchidies) et une hypo-virilisation (hypospadias). Chez les filles les effets du diethylstilbestrol nous indiquent qu'on peut attendre une diminution de la fertilité et une augmentation des risques de cancer du vagin et du col notamment (Verloop *et al.*, 2010). Pour que ces effets s'observent il faut atteindre un rapport de concentration des œstrogènes exogènes et endogènes supérieur au rapport d'affinité des deux types de molécules pour les récepteurs des œstrogènes. Dans le cas des isoflavones la différence d'affinité des molécules pour les récepteurs des œstrogènes est de l'ordre de 1 pour 1 000 alors que les rapports de concentrations sont de l'ordre de 1 pour 10. On peut donc considérer qu'une exposition fœtale dans le cadre d'une consommation de soja modérée et régulière n'est pas susceptible d'affecter le fœtus. C'est d'ailleurs ce que l'on observe en Asie. On ne peut rien dire en cas de surconsommation régulière. En effet, il faut citer ici l'étude de North & Golding (2000) ancillaire de la « Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood » qui ont montré une association forte entre régime végétarien pendant la grossesse et l'incidence des hypospadias (odds ratio de 4,99 - Intervalle de confiance à 95 %, 2,10-11,88). Ces auteurs attribuent cet effet aux phyto-œstrogènes mais on pourrait aussi évoquer une plus grande exposition des végétariennes à des xénobiotiques estrogéniques (herbicides et/ou pesticides) ou un effet de carence alimentaire. L'étude d'Akre *et al.* (2008) menée en Suède et au Danemark de 2000 à 2005 irait plutôt dans ce sens puisque ces auteurs ont montré que l'absence de poisson et de viande dans la ration alimentaire augmentait significativement le risque d'hypospadias (odds ratio de 4,6 - Intervalle de confiance à 95 %, 1,6-13,3). En tout état de cause, sans corrélation aux doses d'isoflavones ou d'autres phyto-œstrogènes dans les fluides biologiques, le rôle de ces derniers dans ce phénomène ne peut être indubitablement retenu. S'il s'avérait exact il correspondrait sans doute à un cas de sur-consommation de phyto-œstrogènes.

Exposition néonatale

D'après le rapport américain de Rozman *et al.* (2006), l'exposition des nourrissons nourris exclusivement aux formules infantiles à base de protéines de soja pendant la période de 1 semaine à 4 mois peut atteindre jusqu'à 11 mg/kg/jour vers 1 mois. Toujours selon ce rapport, les taux d'isoflavones circulants chez les bébés de 4 mois atteignent en moyenne 3,5 µM et jusqu'à 6,5 µM contre 0,18 à 0,7 µM chez un adulte américain et 0,15 à 0,88 µM chez un adulte asiatique qui consomme du soja. Notez que les calculs d'exposition sont fait à partir de valeurs mesurées dans les formules américaines qui corroborent celles mesurées par Setchell *et al.* (1997) dans des formules américaines, par Irvine *et al.* (1998) dans des formules néo-zélandaises ou par nous même en France (Bennetau-Pelissero *et al.*, 2001 et 2004).

On rappellera ici que Cassidy *et al.*, en 1995, ont montré que chez la femme pré-ménopausée 0,75 mg/kg/j d'isoflavones étaient capables de diminuer la sécrétion de LH hypophysaire et d'allonger les cycles menstruels. Par ailleurs, McMichael-Philips *et al.* (1996) ont montré qu'à cette dose les isoflavones de soja exerçait un effet œstrogénique sur la glande mammaire saine. La prise exclusive de formules infantiles à base de soja chez le nourrisson peut conduire à une exposition jusqu'à 10 fois supérieure avec les formules américaines. On s'attend donc à des effets œstrogéniques et anti-LH.

Chez le petit garçon on observe aux alentours de 4 mois (*i.e.* avant la diversification alimentaire) une augmentation marquée de la LH hypophysaire (Chada^{1,2} *et al.*, 2003). Celle-ci entraîne normalement une synthèse de testostérone périphérique qui a deux rôles : (1) la multiplication des cellules testiculaires (Leydig, Sertoli) et (2) la masculinisation de l'aire sexuellement dimorphique de l'aire préoptique (ASD-APO). Cette masculinisation est obtenue par l'aromatation de la testostérone en œstradiol au niveau local. Il faut donc bien comprendre que cette masculinisation qui se traduira à l'âge adulte sur le plan comportemental est en fait due à l'œstradiol comme messenger secondaire. Une exposition massive à des œstrogènes peut donc conduire dans ce cas à une diminution de la production de LH qui se traduira par une réduction du développement puis du fonctionnement testiculaire à l'âge adulte. En revanche, on n'attend pas de modification du comportement sexuel chez le garçon puisque la masculinisation de l'ASD-APO peut être assurée par les phyto-œstrogènes qui viennent se substituer à l'œstradiol dérivant normalement de la synthèse néonatale de testostérone.

Chez la petite fille on n'observe pas d'augmentation significative de LH néonatale. On craint donc une œstrogéni-

sation de la gonade et éventuellement une masculinisation de l'ASD-APO. L'œstrogénisation de la gonade en néonatal chez la souris se traduit par une perturbation des cycles à l'âge adulte, des ovaires polykystiques, des follicules pluriovocytaires et des troubles de la fertilité selon Jefferson *et al.* (2007). Par ailleurs Faber & Huges (1991) ont observé la masculinisation de l'ASD-APO chez des rates exposées par injection à de très fortes doses de génistéine en néonatal.

Chez le singe marmoset, Sharpe *et al.* (2002) ont montré que la prise non exclusive d'une formule infantile à base de soja diminuait significativement la production néonatale de testostérone chez les petits mâles suggérant une altération des taux circulants de LH. Sur ces animaux à l'âge adulte il n'a pas été montré d'altération de la fertilité ou du comportement. Un phénomène de compensation semblant même s'être mis en place concernant les cellules de Leydig (Tan *et al.*, 2006). Toujours chez le singe, rhesus cette fois, la prise d'un agoniste du GnRH en néonatal qui altère la sécrétion de LH, entraîne une dévirilisation du comportement à l'âge adulte (Mann *et al.*, 1989 ; Eisler *et al.*, 1993) une réduction de la taille testiculaire (Mann *et al.*, 1989), une hypospermie (Mann *et al.*, 1989), une ostéopénie (Mann *et al.*, 1993), une immunodéficience partielle (Gould *et al.*, 1998).

Chez l'homme nous n'avons que peu de données car compte tenu de ces résultats les comités d'éthiques n'autorisent maintenant que difficilement cette exposition à des fins expérimentales. L'étude rétrospective de Strom *et al.* (2001) est la seule qui ait pu à ce jour apporter quelques éléments. Ils ont enquêté par téléphone auprès de jeunes adultes, hommes et femmes, exposés en néonatal soit à des formules infantiles à base de soja, soit à des formules à base de lait de vache. Selon ces auteurs, il n'y a pas d'effets délétères. Toutefois, chez les femmes, ils observent une fréquence significativement plus grande d'apparition de boutons d'acné pendant les règles, des règles significativement plus douloureuses et plus longues. Par ailleurs, ils dénombrent 3 mort-nés / 79 naissances dans le groupe soja contre 0 mort-né / 148 naissances dans le groupe lait de vache. Les auteurs concluent à la non significativité des résultats. Chez les hommes l'enquête n'a fait ressortir aucun problème de comportement sexuel. Toutefois, les appels téléphoniques n'ont pas permis d'avoir une appréciation de la taille testiculaire et de la production spermatique en quantité et en qualité chez les sujets interrogés.

Une étude récente de Chavarro *et al.* (2008) indiquent une baisse significative de la production spermatique avec la prise de soja sur des volontaires adultes obèses. Une tendance à la diminution est de la même façon observée chez des volontaires à BMI normal. Dans ce cas particulier on peut envisager un effet anti-LH devenant significatif chez les obèses, à cause de l'action conjuguée des isoflavones

de soja et de l'œstradiol endogène produit par les tissus adipeux. Par ailleurs, l'effet dépréciateur de la consommation de soja sur la production spermatique (passant vraisemblablement par un effet anti-LH) avait déjà été appréhendé dans le passé considérant les travaux de Fisch *et al.* (1996) qui montraient une concentration plus faible en spermatozoïdes chez les Asiatiques par rapport aux Occidentaux, ceci sans incidence sur la fertilité.

Pour terminer, dans leur rapport, Rozman *et al.* (2006) disent que les données sont trop éparses et les études trop mal conduites pour pouvoir conclure dans un sens ou dans l'autre. Ils recommandent de limiter autant que faire se peut la consommation exclusive de formules infantiles à base de protéines de soja dans les premiers mois de la vie. De la même façon la société de Pédiatrie américaine ne voit comme indication à la prise de soja néonatale que la conviction végétarienne parentale et des galactosémies ou des déficiences en lactase qui s'avèrent extrêmement rares (Bhatia *et al.*, 2008). La société de Pédiatrie française est sur la même position (Rieu *et al.*, 2006).

Afin d'avancer sur ce sujet sans exposer inutilement de jeunes enfants à titre expérimental il faudrait enquêter auprès des personnes fréquentant les CECOS (Centre d'études et de conservation des œufs et du spermes) pour éventuellement corréler la prise de soja dans la toute petite enfance et les caractéristiques spermatiques à l'âge adulte. Si en tenant compte des biais multiples on s'aperçoit que les hommes ayant pris des formules infantiles au soja sont surreprésentés parmi les cas d'hypo ou d'oligospermie et éventuellement d'hypofertilité alors on aura démontré un effet possiblement délétère de la prise de soja avant 6 mois. En attendant, que faire ? Pour des raisons à la fois éthiques et commerciales les industriels du secteur ne devraient pas proposer de formules infantiles 1^{er} âge à base de soja. On devrait conseiller l'introduction du soja comme en Asie en quantités modérées, après les premières dents, en diversification alimentaire, dans le cadre d'un régime varié et équilibré.

Effets sur la fonction osseuse

L'os est un tissu vivant soumis à un remodelage constant (Coxam, 2008). Celui-ci est assuré par la dégradation continue de la matrice osseuse par les ostéoclastes, compensée par la néo-formation osseuse issue de l'activité ostéoblastique. Au cours du vieillissement et particulièrement chez les femmes à la ménopause, l'activité ostéoclastique prend le pas sur celle des ostéoblastes conduisant à l'ostéopénie, éventuellement à l'ostéoporose et accroissant le risque fracturaire.

Les ostéoblastes dérivent de cellules stromales qui se différencient en plusieurs étapes influencées par les facteurs de croissance et les œstrogènes notamment. Les ostéoclastes dérivent quand à eux de monocytes. Leur différenciation requiert une activation de leurs récepteurs RANK par son ligand RANK-L produit par les ostéoblastes. Les ostéoblastes produisent également l'ostéoprotégérine (OPG) qui leurre le récepteur RANK inhibant du même coup la différenciation ostéoclastique. La régulation du remodelage osseux est donc la résultante d'un équilibre finement contrôlé par des facteurs endocrines, paracrines et nutritionnels complexes. Les œstrogènes ne représentent qu'un des facteurs influençant favorablement ce processus (Zalzone, 2006).

Dans ce cadre, l'action des phyto-œstrogènes de soja a été évaluée chez l'homme par des études épidémiologiques et des études d'intervention. Si les données obtenues en Asie semblent indiquer une réduction du risque fracturaire par rapport à la situation occidentale (Ross *et al.*, 1991), les données de Densité Minérale Osseuse (DMO) ou de Contenu Minéral Osseux (CMO) ne sont pas complètement corrélées (Ross *et al.*, 1995). Concernant les études d'intervention certaines montrent une réduction de l'excrétion des marqueurs de la résorption (Scheiber *et al.*, 2001 ; Chiechi *et al.*, 2002 ; Kritz-Silverstein & Goodman-Gruen, 2002 ; Roudsari *et al.*, 2005) d'autres non (Cheong *et al.*, 2007). En revanche, la DMO et/ou le CMO ne sont pas forcément améliorés (Alekel *et al.*, 2000 ; Chen *et al.*, 2003 ; Gallagher *et al.*, 2004 ; Lydeking-Olsen *et al.*, 2004 ; Kreijkamp-Kasper *et al.*, 2004). Les doses utilisées sont en général importantes, de l'ordre de 100 mg/jour. Les études n'excèdent en général pas 1 an ce qui n'est peut-être pas suffisant pour détecter un effet significatif sur l'os lui-même. Par ailleurs, la DMO n'est pas un critère suffisant pour déterminer un effet préventif du risque fracturaire. L'architecture osseuse est en effet encore plus importante que la DMO elle-même. Actuellement elle n'a été appréhendée dans aucune étude humaine. Une étude d'intervention de long terme (2 ans) vient d'être terminée aux USA : la « SPARE study » ; les résultats devraient nous parvenir très prochainement (Levis *et al.*, 2010).

Chez l'animal les données sont toutes positives faisant ressortir des effets significatifs d'une consommation de soja puis des isoflavones prises individuellement (Picherit^{1,2} *et al.*, 2000 ; Picherit^{1,2} *et al.* 2001). L'équol produit abondamment chez les rongeurs semble avoir un effet particulier sur l'os (Picherit¹ *et al.*, 2000). Les effets se mesurent à la fois sur l'excrétion des marqueurs de résorption, sur les taux plasmatiques d'ostéocalcine, sur la DMO et le CMO ainsi que sur la résistance fémorale fracturaire. Les doses de phyto-œstrogènes sont parfois importantes mais aussi par-

fois de l'ordre de celles qui entraînent des concentrations d'isoflavones sériques plausibles chez l'Homme.

Sur cellules, tous les résultats sont positifs montrant un effet de la génistéine et de la daidzéine sur la prévention de la différenciation ostéoclastique et sur l'activation de la différenciation ostéoblastique (Rassi *et al.*, 2002 ; Garcia Palacios *et al.*, 2005). Les isoflavones font proliférer les ostéoblastes et activent les protéines du cytosquelette de ces cellules (Kim *et al.*, 2004, Morris *et al.*, 2006). Elles augmentent également la production de la phosphatase alcaline osseuse (APL), de l'OPG et la minéralisation des ostéoblastes (Choi *et al.*, 2001 ; Chen *et al.*, 2002 ; Kanno *et al.*, 2004). Elles diminuent la production de cytokines pro-inflammatoires comme IL-6 qui activent les ostéoclastes (Chen *et al.*, 2002). Les effets passent à la fois par la voie génomique ERE dépendante bloquée par ICI 182,780 (de Wilde *et al.*, 2004) et par des voies membranaires aboutissant à la phosphorylation de CREB (de Wilde *et al.*, 2006).

Malgré toutes ces données, on ne peut pas conclure de façon définitive à une prévention du risque fracturaire avec la consommation de soja (Coxam, 2008). Pour ce faire il faudrait une étude d'intervention traités contre placebo d'envergure développée sur 20 ans ou plus et enregistrant les fractures dans les deux groupes. Une approche multicentrique serait très vraisemblablement nécessaire. Dans l'attente d'une telle étude on ne conclura ni dans un sens ni dans l'autre. On notera tout de même qu'à côté des phyto-œstrogènes, les facteurs d'activité physique et nutritionnels concourent à prévenir l'ostéopénie. Il s'agit de prébiotiques (Mathey *et al.*, 2004), de polyphénols (Puel *et al.*, 2008) ou de micronutriments alcalinisant comme le calcium, le magnésium, le potassium mais aussi les vitamines B, C, D et K (Coxam, 2008). Les aliments acidifiants et les colas doivent être évités (Tucker *et al.*, 2009). La prise de protéines doit être raisonnable tout en étant suffisante (Coxam, 2008 ; Tucker *et al.*, 2009).

Effets sur les cancers estrogéno-dépendants

La littérature est abondante dans ce domaine et il est impossible de tout passer en revue ici. Si sur les cancers de la prostate les effets semblent plutôt positifs (Hwang *et al.*, 2009) sans qu'on puisse encore complètement annoncer un rôle définitivement protecteur (Kumar *et al.*, 2010), sur les cancers de l'utérus les chercheurs sont plus prudents car de part la définition même des œstrogènes et les effets utéro-trophiques des phyto-œstrogènes (Jefferson *et al.*, 2002) ainsi que les effets des surdosages cités précédemment (Chandrarredy *et al.*, 2008) le doute persiste.

Pour plus de commodités nous avons choisi de ne traiter ici que les cancers du sein car le sujet est hautement controversé. Si l'on examine les données cellulaires on observe que sur les cellules MCF-7, retenues par l'OCDE pour classer les composés de l'environnement à risque, les isoflavones seules ou en combinaison avec l'œstradiol ainsi que le coumestrol ont des effets proliférateurs aux doses inférieures à 10-20 μM (Sathyamoorthy & Wang, 1997; Hsieh *et al.*, 1998). En revanche les lignanes ont un effet qui antagonise celui de l'œstradiol. Pour la 8-PN les effets à doses fortes sont proliférateurs (Kretzschmar *et al.*, 2010). Récemment il a été montré que les isoflavones n'avaient pas forcément un effet proliférateur sur d'autres types de cellules cancéreuses mammaires *in vitro* (Tonetti *et al.*, 2007) et que sur des cellules ne possédant que l'ER β les effets étaient plutôt antagonistes de celui de l'œstradiol (Rajah *et al.*, 2009). On conclura que l'effet proliférateur des isoflavones de soja n'est pas systématique sur les cellules mammaires. Toutefois, lorsqu'un cancer du sein est aujourd'hui diagnostiqué on ne sait pas forcément très précisément à quel type de cellules tumorales on a affaire.

Chez les modèles de souris nudes athymiques implantés avec des cellules MCF-7, modèles développés par Allred et Helferich (Allred *et al.*, 2001) le soja et les isoflavones prises isolément ont montré des effets proliférateurs doses dépendants (Ju *et al.*, 2001 ; Ju *et al.*, 2006). Ces modèles sont à considérer avec attention car ils conduisent les MCF-7 implantées à recevoir des doses physiologiques d'isoflavones dans les formes qui circulent normalement après une prise de soja ou de composés isolés à la fois chez le modèle murin et chez l'Homme. Cette même équipe a montré que la génistéine antagonisait un traitement au tamoxifène (anti-œstrogène utilisé en thérapie) (Ju *et al.*, 2002) mais aussi un traitement au létrozole (anti-aromatase utilisé en traitement des cancers du sein) (Ju *et al.*, 2008). Dans ce modèle l'entérodol et l'entérolactone n'ont pas montré d'effet proliférateur et se sont montrés des antagonistes de l'œstradiol sur la prolifération des cellules implantées (Power *et al.*, 2006). Même si le modèle nude est par essence immunodéficient et qu'il présente dès lors une sensibilité exacerbée aux œstrogènes, les effets, même amplifiés par rapport à la situation humaine, doivent être pris en considération.

A côté de ces effets prolifératifs sur des cellules tumorales, plusieurs auteurs ont montré que les isoflavones de soja pouvaient prévenir le développement de tumeurs chimio-induites si elles étaient administrées en préadolescence (Lamartinière *et al.*, 1995 ; Whitsett *et al.*, 2006 ; Messina & Hilakivi-Clarke, 2009). Ces auteurs expliquent ces résultats par une accélération de la différenciation de la glande mammaire qui s'oppose ensuite à la dédifférenciation tumorale.

Il est particulièrement intéressant de noter que des études épidémiologiques récentes montrent qu'en Asie une expo-

sition dans l'enfance, l'adolescence et pendant la première partie de la vie d'adulte prévient le risque de cancer à la ménopause (Wu *et al.*, 2002 ; Korde *et al.*, 2009 ; Lee *et al.*, 2009). Il faut évidemment se replacer dans le contexte nutritionnel asiatique où, on l'a dit, la prise de soja est modérée et régulière. A côté de ces résultats les études épidémiologiques menées en Occident montrent soit une absence d'effet des doses faibles (Peterson *et al.*, 2003 ; Dos Santos Silva *et al.*, 2004 ; Ingram *et al.*, 1997) soit une légère augmentation du risque de cancer du sein (Horn-Ross *et al.*, 2001) parfois non significative (Horn-Ross *et al.*, 2001 ; Grace *et al.*, 2004) suivant le type de composé qui est considéré. Les entérolignanes quant à eux apparaissent plutôt protecteurs (Ingram *et al.*, 1997 ; Pietinen *et al.*, 2001) ou sans effet significatif.

Alors que penser ? D'un côté certaines études rapportent un effet proliférateur, de l'autre un effet protecteur si la prise d'isoflavones est régulière depuis l'enfance comme en Asie. Dans tous les cas nous n'avons aucune raison de penser qu'à doses alimentaires convenables les isoflavones de soja induiraient directement la tumorigénèse des cellules. Ces deux visions s'opposent-elles vraiment ? La réponse est non. Dans un cas on observe des effets sur des cellules tumorales déjà transformées (test de prolifération), de l'autre on examine la bascule cellules saines / cellules tumorales (tumeurs chimio-induites ou exposition depuis l'enfance). En fait, rien n'empêche les isoflavones de présenter cette dualité des effets. Ainsi, en 2005, Li *et al.* montrent que la génistéine diminue la biodisponibilité cellulaire d'un oncogène : le MDM2. Ce type d'effet est susceptible de freiner l'apparition de cellules tumorales. La prévention de la tumorigénèse se trouve également confortée par des études récentes qui montrent un effet épigénétique des isoflavones de soja (Hilakivi-Clarke, 2007 ; Warri *et al.*, 2008 ; Li *et al.*, 2009). Pour le moment les données qui sont publiées sur cellules cancéreuses ne sont pas encore très convaincantes car les auteurs se sont principalement attachés à examiner des effets épigénétiques sur les promoteurs de gènes surexprimés par les cellules tumorales (King-Batoon *et al.*, 2008). Si l'on se place dans une hypothèse d'une prévention nutritionnelle des cancers, ce sont les promoteurs des proto-oncogènes mis en œuvre au début des processus de tumorigénèse qu'il faut examiner. Cette piste mériterait d'être étudiée avec attention. Enfin, si les isoflavones de soja présentent un effet protecteur sur la tumorigénèse cellulaire, alors un suivi prolongé sur plusieurs années de femmes ménopausées avec et sans isoflavones en doses significatives, devrait faire apparaître un nombre plus important de tumeurs chez les personnes sous soja en début d'étude. Chez ces personnes les isoflavones feraient effectivement proliférer des tumeurs déjà établies mais non révélées au moment de l'inclusion dans l'étude. En revanche, dans un deuxième temps, le nombre de tumeurs dans le groupe soja devrait être très réduit car les femmes pourraient bénéficier

de la protection par les isoflavones alors que celles sans isoflavones déclareraient des tumeurs présentes initialement ou se développant secondairement. En tout état de cause, cette piste mérite d'être examinée mais elle nécessite le suivi de cohortes adéquates sur le long terme. Elle plaide, comme en Asie, pour une consommation modérée et régulière de soja depuis l'enfance. Toutefois, et en accord avec les recommandations du Rapport AFSSA-AFSSAPS de 2005, les isoflavones seraient à éviter chez les femmes ménopausées n'ayant pas été modérément et régulièrement confrontée au soja précédemment, et présentant des antécédents personnels ou familiaux de cancers du sein. Les femmes traitées pour un cancer du sein devraient également s'abstenir de consommer des isoflavones. Cette recommandation tient toujours malgré l'étude récente de Shu *et al.* (2009) qui annoncent une meilleure survie des femmes prenant du soja après un cancer du sein. En effet, l'un des critères d'inclusion dans cette étude était la mastectomie. Ce type de traitement n'est pas choisi en première intention en Occident. On peut aussi comprendre qu'après chirurgie le risque de récurrence soit faible avec ou sans soja.

Effets sur la fonction mnésique

La WHI (Women's Health Initiative) et son étude ancillaire la WHIM (M pour memory) ont pendant un temps semé le trouble dans les esprits. La WHI a été entreprise en 1995 aux USA pour tester les effets bénéfiques du Traitement Hormonal Substitutif (THS) américain sur la sphère vasculaire. Elle a été arrêtée en 2002 lorsqu'il est apparu une incidence accrue des accidents vasculaires et secondairement une légère augmentation des « Minimal Mental Scores » altérés chez les femmes sous traitement vs placebo (40/2245 vs 21/2245 respectivement) (Zhao & Brinton, 2007). On s'est ensuite aperçu que les femmes avaient été recrutées tardivement après la ménopause, qu'elles étaient pour plus de 60 % d'entre elles en surpoids. On a également découvert que les traitements aux œstrogènes conjugués équilibrés et à l'acétate de méthoxy-progestérone étaient particulièrement à risque sur la sphère vasculaire.

En fait, depuis plusieurs années les œstrogènes sont considérés comme des agents neurotrophiques et neuroprotecteurs (Brann *et al.*, 2007). Leurs modes d'action sont multiples. Ils peuvent agir soit directement sur les neurones, soit sur les cellules vasculaires cérébrales pour induire la vasodilatation, soit sur les astrocytes et les cellules gliales pour réduire notamment les processus d'inflammation. Les principaux territoires impliqués dans la mémoire (cortex préfrontal, hippocampe, septum médian, basal forebrain, striatum, amygdale) présentent des récepteurs aux œstrogènes alpha et bêta et sont capables de synthétiser l'œstradiol

par aromatisation de la testostérone et ce chez les mâles et chez les femelles. Les études épidémiologiques à ce jour montrent une détérioration de la mémoire des hommes âgés avec le Tofu (White *et al.*, 2000 ; Hogervorst *et al.*, 2008), une amélioration des performances de ces mêmes hommes âgés avec le Tempeh (Hogervorst *et al.*, 2008), un maintien des performances chez des femmes ménopausées avec du soja apportant de faibles doses d'isoflavones (Huang *et al.*, 2006 ; Kreijkamp-Kasper *et al.*, 2007) et une amélioration des performances avec les lignanes (Kreijkamp-Kasper *et al.*, 2007). Trois études d'intervention ont été menées avec du soja. Chez des individus jeunes, les performances cognitives sont améliorées avec un apport de 100 mg d'isoflavones/j (File *et al.*, 2001). Chez des femmes ménopausées 99 mg d'isoflavones/jour n'ont pas d'effet (Kreijkamp-Kasper *et al.*, 2004), et 72 mg d'isoflavones/jour ont un effet délétère. Six études ont été menées avec des compléments alimentaires sur des hommes et/ou des femmes jeunes ou âgés, occidentaux ou asiatiques. Ces études sont soit positives (4/6) soit sans effet (2/6) (Duffy *et al.*, 2003 ; Casini *et al.*, 2006 ; Ho *et al.*, 2007, Gleason *et al.*, 2006 ; Thorp *et al.*, 2009, Maki *et al.*, 2009).

Chez les rongeurs sur les 7 études décrites à ce jour (Lund¹ & Lephart, 2001, Lund² & Lephart 2001 ; Lund *et al.*, 2001 ; Lee *et al.*, 2004 ; Lee *et al.*, 2009 ; Luine *et al.*, 2006 ; Monteiro *et al.*, 2008) toutes sont positives sauf celle de Lund¹ & Lephart (2001) qui rapportent un effet positif de fortes doses d'isoflavones chez les femelles et un effet délétère de ces mêmes doses chez les mâles.

In vitro, la génistéine à fortes doses (> 10µM : effet anti-protéine tyrosine kinase) est délétère (Mielke *et al.*, 2009). La génistéine et la daidzéine à doses plausibles sont protecteurs des effets délétères du peptide β-amyloïde (Wang *et al.*, 2001 ; Bang *et al.*, 2004 ; Jefremov *et al.*, 2008). La génistéine, à doses plausibles, renforce la stimulation cholinergique hippocampique par différents mécanismes (Cho *et al.*, 2005). La génistéine et la daidzéine sont anti-inflammatoires sur les neurones et les cellules gliales (Kajta *et al.*, 2007). La daidzéine est neurotrophique en culture (Wang *et al.*, 2008). Toutes ces données se complètent dans un tout cohérent et devraient inciter à compléter les données cliniques par des interventions avec des compléments alimentaires convenablement dosés et administrés (rythme).

CONCLUSION

Le soja et les phyto-œstrogènes plus généralement souffrent d'un problème de communication avant tout. Les chercheurs s'accordent à penser que le soja est un excellent aliment, riche en protéines, dépourvu de cholestérol et

apportant notamment des phyto-stérols. Pourtant, le soja est de notre point de vue, plus qu'un aliment fonctionnel. Il devrait être classé dans la catégorie des alicaments car il contient des phyto-œstrogènes « full agonistes » de l'œstradiol pour ses récepteurs et qu'en Occident l'administration d'œstrogènes relève de la prescription médicamenteuse. Pour autant, un médicament n'est pas un poison. Il est préconisé pour améliorer la santé mais il présente une/des indication(s) et une posologie. Dans cette optique le soja doit être réservé à certains moments de la vie et doit être utilisé de façon modérée. Pour éviter les excès, il doit bénéficier d'une communication adaptée. « Un peu tous les jours est bon pour la santé ». Dans nos pays occidentaux où le plaisir guide souvent la consommation il devrait bénéficier d'une présentation adaptée prévenant les excès. Les seules restrictions à afficher seraient (1) pour les nourrissons ne pouvant pas encore mâcher et en tout état de cause avant la diversification alimentaire et (2) pour les femmes ménopausées n'ayant jamais pris de soja de façon modérée et régulière et présentant des antécédents personnels ou familiaux de cancer du sein ou étant traitées pour un cancer du sein.

Cette présentation a volontairement laissé de côté les molécules naturelles dont les actions cellulaires ne privilégiaient pas la voie génomique ERE dépendante. Toutefois, ces voies de signalisation existent et induisent des effets œstrogéniques génomiques ou non génomiques, dont certains s'avèrent particulièrement intéressants à promouvoir. Les recherches devraient s'orienter vers les molécules aux effets œstrogéniques non ERE-dépendants et notamment sur celles n'induisant pas, aux doses alimentaires, la prolifération des cellules œstrogéno-dépendantes *i.e.* sur les SERM alimentaires.

RÉFÉRENCES

- Adams NR. Permanent infertility in ewes exposed to plant œstrogens. *Aust Vet J.* 1990;67:197-201.
- Adlercreutz H, Fotsis T, Heikkinen R, Dwyer JT, Woods M, Goldin BR, Gorbach SL. Excretion of the lignans enterolactone and enterodiol and of equol in omnivorous and vegetarian postmenopausal women and in women with breast cancer. *The Lancet.* 1982;1982ii:1295-1299.
- Adlercreutz H, Markkanen H, Watanabe S. Plasma concentrations of phyto-oestrogens in Japanese men. *Lancet.* 1993;342(8881):1209-10.
- Adlercreutz H, Yamada T, Wähälä K, Watanabe S. Maternal and neonatal phytoestrogens in Japanese women during birth. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;180(3 Pt 1):737-43.
- Akiyama T, Ishida J, Nakagawa S, Ogawara H, Watanabe S, Itoh N, Shibuya M, Fukami Y. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *Biol Chem.* 1987;262(12):5592-5.
- Akre O, Boyd HA, Ahlgren M, Wilbrand K, Westergaard T, Hjalgrim H, Nordenskjöld A, Ekblom A, Melbye M. Maternal and gestational risk factors for hypospadias. *Environ Health Perspect.* 2008;116(8):1071-6.
- Alekel DL, Germain AS, Peterson CT, Hanson KB, Stewart JW, Toda T. Isoflavone-rich soy protein isolate attenuates bone loss in the lumbar spine of perimenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 2000;72(3):844-52.
- Allred CD, Allred KF, Ju YH, Virant SM, Helferich WG. Soy diets containing varying amounts of genistein stimulate growth of estrogen-dependent (MCF-7) tumors in a dose-dependent manner. *Cancer Res.* 2001;61(13):5045-50.
- Anderson RL, Wolf WJ. Compositional changes in trypsin inhibitors, phytic acid, saponins and isoflavones related to soybean processing. *J. Nutr.* 1995;125:581S-8S.
- Axelsson M, Kirk DN, Farrant RD, Cooley G, Lawson AM, Setchell KDR. The identification of the weak œstrogene equol [7 hydroxy-3(4'hydroxyphenyl) chroman] in human urine. *Biochem J.* 1982;201:353-357.
- Badger TM, Ronis MJJ, Rowlands JC, Korourian S. The health consequences of early soy consumption. *J Nutr.* 2002;132:559S-565.
- Bang OY, Hong HS, Kim DH, Kim H, Boo JH, Huh K, Mook-Jung I. Neuroprotective effect of genistein against beta amyloid-induced neurotoxicity. *Neurobiol Dis.* 2004; 16(1):21-8.
- Bennetau-Pelissero C¹, Flouriot G, Valotaire Y, Sumpter JP, Le Menn F. Induction of rainbow trout œstradiol receptor (rER) mRNA and vitellogenin (rtVTG) mRNA by phytoœstrogens in hepatocyte cultures. *Ann. New York Acad. Sci.* 1998;839:600-1.
- Bennetau - Pelissero C², Kaushik S, Sumpter J, Fostier A, Le Gac F, Valotaire Y, Davail - Cuisset B, Le Menn F. Effets du soja et des phyto-œstrogènes sur la vitellogénèse et l'endocrinologie stéroïdienne de la truite arc-en-ciel et de l'esturgeon sibérien. Approches *in vivo* et *in vitro*. *Bull. Fra.Pisc.* 1998;350-351:571-83.
- Bennetau-Pelissero C. Les phyto-œstrogènes dans l'alimentation et la thérapie : discussion *Cah Nutr Diet.* 2001;36(1):25-36.
- Bennetau-Pelissero C, Arnal-Schnebelen B, Lamothe V, Sauviant P, Sagne JL, Verbruggen MA, Mathey J, Lavialle O. ELISAs as new methods to measure isoflavones in food and human fluids. *Food Chem.* 2003;82:645-658.
- Bennetau-Pelissero C., Sauviant P., Peltre G., Auriol P., Rocca A. et Rancé F. Phyto-œstrogènes du soja : problèmes posés chez le nourrisson allergique au lait de vache et consommant des formules à base de soja. *Cah Nutr Diet.* 2004;39(1):24-32.
- Bennetts HW, Underwood EJ, Shier FL. A specific breeding problem of sheep on subterranean clover pastures in western australia. *Aust. Vet. J.* 1946;22:2-12.
- Bhatia J, Greer F; American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition. Use of soy protein-based formulas in infant feeding. *Pediatrics.* 2008;121(5):1062-8.
- Björnström L, Sjöberg M. Mechanisms of estrogen receptor signaling: convergence of genomic and nongenomic actions on target genes. *Mol Endocrinol.* 2005 Apr;19(4):833-42.
- Bowey E, Adlercreutz H, Rowland I. Metabolism of isoflavones and lignans by the gut microflora: a study in germ-free and human flora associated rats. *Food Chem Toxicol.* 2003;41(5):631-6.
- Braden AWH., Hart NK, Lamberton JA. The œstrogenic activity and metabolism of certain isoflavones in sheep. *Aust J Agric Res.* 1967;18:335-48.

- Brann DW, Dhandapani K, Wakade C, Mahesh VB, Khan MM. Neurotrophic and Neuroprotective Actions of Estrogen: Basic Mechanisms and Clinical Implications. *Steroids*. 2007;72(5):381-405.
- Casini ML, Marelli G, Papaleo E, Ferrari A, D'Ambrosio F, Unfer V. Psychological assessment of the effects of treatment with phytoestrogens on postmenopausal women: a randomized, double-blind, crossover, placebo-controlled study. *Fertil Steril*. 2006;85(4):972-8.
- Cassidy A, Bingham S, Setchell K. Biological effects of isoflavones in young women: importance of the chemical composition of soybean products. *Br J Nutr*. 1995;74(4):587-601.
- Chada¹ M, Prusa R, Bronský J, Kotaska K, Sídlová K, Pechová M, Lisá L. 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.
- Chada² M, Prusa R, Bronský J, Pechová M, Kotaska K, Lisá L. Inhibin B, follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, and oestradiol and their relationship to the regulation of follicle development in girls during childhood and puberty. *Physiol Res*. 2003;52(3):341-6.
- Chandrareddy A, Muneayirci-Delale O, McFarlane SI, Murad OM. Adverse effects of phytoestrogens on reproductive health: a report of three cases. *Complement Ther Clin Pract*. 2008;14(2):132-5.
- 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 Reprod* 2008;23(11):2584-90.
- Chen XW, Garner SC, Anderson JJ. (). Isoflavones regulate interleukin-6 and osteoprotegerin synthesis during osteoblast cell differentiation via an estrogen-receptor-dependent pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;295:417-22.
- Chen YM, Ho SC, Lam SS, Ho SS, Woo JL. Soy isoflavones have a favorable effect on bone loss in Chinese postmenopausal women with lower bone mass: a double-blind, randomized, controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(10):4740-7.
- Cheong JM, Martin BR, Jackson GS, Elmore D, McCabe GP, Nolan JR, Barnes S, Peacock M, Weaver CM. Soy isoflavones do not affect bone resorption in postmenopausal women: a dose-response study using a novel approach with ⁴¹Ca. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(2):577-82.
- Chiechi LM, Secreto G, D'Amore M, Fanelli M, Venturelli E, Cantatore F, Valerio T, Laselva G, Loizzi P. Efficacy of a soy rich diet in preventing postmenopausal osteoporosis: the Menfis randomized trial. *Maturitas*. 2002;42(4):295-300.
- Cho CH, Song W, Leitzell K, Teo E, Meleth AD, Quick MW, Lester RA. Rapid upregulation of alpha7 nicotinic acetylcholine receptors by tyrosine dephosphorylation. *J Neurosci*. 2005; 25(14):3712-23.
- Choi EM, Suh KS, Kim YS, Choue RW, Koo SJ. Soybean ethanol extract increases the function of osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Phytochemistry* 2001;56:733-9.
- Choi MS, Rhee KC. Production and processing of soybeans and nutrition and safety of isoflavone and other soy products for human health. *J Med Food* 2006;9:1-10.
- Clarke DB, Barnes KA, Lloyd AS. Determination of unusual soya and non-soya phytoestrogen sources in beer, fish products and other foods. *Food Addit Contam*. 2004;21(10):949-62.
- Clavel T, Fallani M, Lepage P, Lenevez F, Mathey J, Rigottier-Gois L, Rochet V, Serézat M, Sutren M, Henderson G, Bennetau-Pelissero C, Blaut M, Doré J, Coxam V. Isoflavones and functional foods alter dominant intestinal microbiota in Humans. *J Nutr*. 2005;135(12):2786-92.
- Coxam V. Phyto-oestrogens and bone health. *Proc Nutr Soc*. 2008;67(2):184-95.
- de Wilde A, Lieberherr M, Colin C, Pointillart A. A low dose of daidzein acts as an ERbeta-selective agonist in trabecular osteoblasts of young female piglets. *J Cell Physiol*. 2004;200(2):253-62.
- de Wilde A, Heberden C, Chaumaz G, Bordat C, Lieberherr M. Signaling networks from Gbeta1 subunit to transcription factors and actin remodeling via a membrane-located ERbeta-related protein in the rapid action of daidzein in osteoblasts. *J Cell Physiol*. 2006;209(3):786-801.
- dos Santos Silva I, Mangtani P, McCormack V, Bhakta D, McMichael AJ, Sevak L. Phyto-oestrogen intake and breast cancer risk in South Asian women in England: findings from a population-based case-control study. *Cancer Causes Control*. 2004;15(8):805-18.
- Duffy R, Wiseman H, File SE. Improved cognitive function in postmenopausal women after 12 weeks of consumption of a soya extract containing isoflavones. *Pharmacol Biochem Behav*. 2003;75(3):721-9.
- Eisler JA, Tannenbaum PL, Mann DR, Wallen K. Neonatal testicular suppression with a GnRH agonist in rhesus monkeys: effects on adult endocrine function and behavior. *Horm Behav*. 1993;27(4):551-67.
- Engel SM, Levy B, Liu Z, Kaplan D, Wolff MS. Xenobiotic phenols in early pregnancy amniotic fluid. *Reprod Toxicol*. 2006;21(1):110-2.
- Faber KA, Hughes CL Jr. The effect of neonatal exposure to diethylstilbestrol, genistein, and zearalenone on pituitary responsiveness and sexually dimorphic nucleus volume in the castrated adult rat. *Biol Reprod*. 1991;45(4):649-53.
- File SE, Jarrett N, Fluck E, Duffy R, Casey K, Wiseman H. Eating soya improves human memory. *Psychopharmacology*. 2001;157(4):430-6.
- Fisch H, Ikeguchi EF, Goluboff ET. Worldwide variations in sperm counts. *Urology*. 1996;48(6):909-11.
- Fotsis T, Pepper M, Adlercreutz H, Fleischmann G, Hase T, Montesano R, Schweigerer L. Genistein, a dietary-derived inhibitor of in vitro angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90(7):2690-4.
- Gallagher JC, Satpathy R, Rafferty K, Haynatzka V. The effect of soy protein isolate on bone metabolism. *Menopause*. 2004;11(3):290-8.
- Ganry O. Phytoestrogen and breast cancer prevention. *Eur J Cancer Prev*. 2002;11(6):519-22.
- Garcia Palacios V, Robinson LJ, Borysenko CW, Lehmann T, Kalla SE, Blair HC. Negative regulation of RANKL-induced osteoclastic differentiation in RAW264.7 Cells by estrogen and phytoestrogens. *J Biol Chem* 2005;280:13720-7.
- Gleason CE, Carlsson CM, Barnett JH, Meade SA, Setchell KD, Atwood CS, Johnson 1 SC, Ries ML, Asthana S. A preliminary study of the safety, feasibility and cognitive efficacy of soy isoflavone supplements in older men and women. *Age Ageing*. 2009;38(1):86-93.
- Gontier-Latourelle K, Cravedi JP, Laurentie M, Lamothe V, Le Menn F, Bennetau-Pelissero C. Disposition of genistein in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*). *Gen. Comp. Endocrinol*. 2006;150:298-308.
- Gould KG, Akinbami MA, Mann DR. Effect of neonatal treatment with a gonadotropin releasing hormone antagonist on developmental changes in circulating lymphocyte subsets: a longitudinal study in male rhesus monkeys. *Dev Comp Immunol*. 1998;22(4):457-67.

- Grace PB, Taylor JI, Low YL, Luben RN, Mulligan AA, Botting NP, Dowsett M, Welch AA, Khaw KT, Wareham NJ, Day NE, Bingham SA. Phytoestrogen concentrations in serum and spot urine as biomarkers for dietary phytoestrogen intake and their relation to breast cancer risk in European prospective investigation of cancer and nutrition-norfolk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2004;13(5):698-708.
- Hertz R. 1985. The estrogen problem. Retrospect and Prospect. In « *Estrogen in the Environment II* ». JA McLachlan Ed, Elsevier Inc. Pub 1-11.
- Hiiipakka RA, Zhang HZ, Dai W, Dai Q, Liao S. Structure-activity relationships for inhibition of human 5 α -reductases by polyphenols. *Biochem Pharmacol*. 2002;63(6):1165-76.
- Hilakivi-Clarke L. Nutritional modulation of terminal end buds: its relevance to breast cancer prevention. *Curr Cancer Drug Targets*. 2007;7(5):465-74.
- Ho SC, Chan AS, Ho YP, So EK, Sham A, Zee B, Woo JL. Effects of soy isoflavone supplementation on cognitive function in Chinese postmenopausal women: a double-blind, randomized, controlled trial. *Menopause*. 2007; 14(3/1):489-99.
- Hogervorst E, Sadjimim T, Yesufu A, Kreager P, Rahardjo TB. High tofu intake is associated with worse memory in elderly Indonesian men and women. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2008; 26(1):50-7.
- Horn-Ross PL, John EM, Lee M, Stewart SL, Koo J, Sakoda LC, Shiao AC, Goldstein J, Davis P, Perez-Stable EJ. Phytoestrogen consumption and breast cancer risk in a multiethnic population: the Bay Area Breast Cancer Study. *Am J Epidemiol*. 2001;154(5):434-41.
- Hsieh CY, Santell RC, Haslam SZ, Helferich WG. Estrogenic effects of genistein on the growth of estrogen receptor-positive human breast cancer (MCF-7) cells in vitro and in vivo. *Cancer Res*. 1998;58(17):3833-8.
- Huang MH, Luetters C, Buckwalter GJ, Seeman TE, Gold EB, Sternfeld B, Greendale GA. Dietary genistein intake and cognitive performance in a multiethnic cohort of midlife women. *Menopause*. 2006; 13(4):621-30.
- Hughes CL, Jr, Kaldas RS, Weisinger AS, McCants CE, Basham KB. Acute and subacute effects of naturally occurring estrogens on luteinizing hormone secretion in the ovariectomized rat : Part 1. *Reprod. Toxicol*. 1991;5(2):127-132.
- Hwang YW, Kim SY, Jee SH, Kim YN, Nam CM. Soy food consumption and risk of prostate cancer: a meta-analysis of observational studies. *Nutr Cancer*. 2009;61(5):598-606.
- Ingram D, Sanders K, Kolybaba M, Lopez D. Case-control study of phyto-oestrogens and breast cancer. *Lancet*. 1997;350(9083):990-4.
- Irvine CH, Shand N, Fitzpatrick MG, Alexander SL. Daily intake and urinary excretion of genistein and daidzein by infants fed soy- or dairy-based infant formulas. *Am J Clin Nutr*. 1998;68(6 Suppl):1462S-1465S.
- Jefferson WN, Padilla-Banks E, Newbold RR. Disruption of the developing female reproductive system by phytoestrogens: genistein as an example. *Mol Nutr Food Res*. 2007;51(7):832-44.
- Jefferson WN, Padilla-Banks E, Clark G, Newbold RR. Assessing estrogenic activity of phytochemicals using transcriptional activation and immature mouse uterotrophic responses. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2002;777(1-2):179-89.
- Jeffremov V, Rakitin A, Mahlapuu R, Zilmer K, Bogdanovic N, Zilmer M, Karelson E. 17 β -Oestradiol stimulation of G-proteins in aged and Alzheimer's human brain: comparison with phytoestrogens. *J Neuroendocrinol*. 2008; 20(5):587-96.
- Ju YH, Allred CD, Allred KF, Karko KL, Doerge DR, Helferich WG. Physiological concentrations of dietary genistein dose-dependently stimulate growth of estrogen-dependent human breast cancer (MCF-7) tumors implanted in athymic nude mice. *J Nutr*. 2001;131(11):2957-62.
- Ju YH, Doerge DR, Allred KF, Allred CD, Helferich WG. Dietary genistein negates the inhibitory effect of tamoxifen on growth of estrogen-dependent human breast cancer (MCF-7) cells implanted in athymic mice. *Cancer Res*. 2002;62(9):2474-7.
- Ju YH, Fultz J, Allred KF, Doerge DR, Helferich WG. Effects of dietary daidzein and its metabolite, equol, at physiological concentrations on the growth of estrogen-dependent human breast cancer (MCF-7) tumors implanted in ovariectomized athymic mice. *Carcinogenesis*. 2006;27(4):856-63.
- Ju YH, Doerge DR, Woodling KA, Hartman JA, Kwak J, Helferich WG. Dietary genistein negates the inhibitory effect of letrozole on the growth of aromatase-expressing estrogen-dependent human breast cancer cells (MCF-7Ca) in vivo. *Carcinogenesis*. 2008;29(11):2162-8.
- Kajta M, Domin H, Gryniewicz G, Lason W. Genistein inhibits glutamate-induced apoptotic processes in primary neuronal cell cultures: an involvement of aryl hydrocarbon receptor and estrogen receptor/glycogen synthase kinase-3 β intracellular signaling pathway. *Neuroscience*. 2007; 145(2):592-604.
- Kanno S, Hirano S., Kayama F. Effects of phytoestrogens and environmental estrogens on osteoblastic differentiation in MC3T3-E1 cells. *Toxicology* 2004;196:137-45.
- Kao PC, P'eng FK. How to reduce the risk factors of osteoporosis in Asia. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)*. 1995;55(3):209-13.
- Kim J, Um SJ, Woo J, Kim JY, Kim HA, Jang KH, Kang SA, Lim BO, Kang I, Choue RW, Cho Y. Comparative effect of seeds of *Rhynchosia volubilis* and soybean on MG-63 human osteoblastic cell proliferation and estrogenicity. *Life Sci*. 2005;78, 30-40.
- King-Batoon A, Leszczynska JM, Klein CB. Modulation of gene methylation by genistein or lycopene in breast cancer cells. *Environ Mol Mutagen*. 2008;49(1):36-45.
- Korde LA, Wu AH, Fears T, Nomura AM, West DW, Kolonel LN, Pike MC, Hoover RN, Ziegler RG. Childhood soy intake and breast cancer risk in Asian American women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009;18(4):1050-9.
- Kreijkamp-Kaspers S, Kok L, Grobbee DE, de Haan EH, Aleman A, Lampe JW, van der Schouw YT. Effect of soy protein containing isoflavones on cognitive function, bone mineral density, and plasma lipids in postmenopausal women: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2004;292(1):65-74.
- Kreijkamp-Kaspers S, Kok L, Grobbee DE, de Haan EH, Aleman A, vanderSchouw YT. Dietary phytoestrogen intake and cognitive function in older women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2007; 62(5):556-62.
- Kretschmar G, Zierau O, Wober J, Tischer S, Metz P, Vollmer G. Prenylation has a compound specific effect on the estrogenicity of naringenin and genistein. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2010;118(1-2):1-6
- Kritz-Silverstein D, Goodman-Gruen DL. Usual dietary isoflavone intake, bone mineral density, and bone metabolism in postmenopausal women. *J Womens Health Gend Based Med*. 2002;11(1):69-78.

- Kuijsten A, Arts IC, Vree TB, Hollman PC. Pharmacokinetics of enterolignans in healthy men and women consuming a single dose of secoisolariciresinol diglucoside. *J Nutr.* 2005;135(4):795-801.
- Kumar NB, Kang L, Pow-Sang J, Xu P, Allen K, Riccardi D, Besterman-Dahan K, Krischer JP. Results of a randomized phase I dose-finding trial of several doses of isoflavones in men with localized prostate cancer: administration prior to radical prostatectomy. *J Soc Integr Oncol.* 2010;8(1):3-13.
- Lamartiniere CA, Moore J, Holland M, Barnes S. Neonatal genistein chemoprevents mammary cancer. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1995;208(1):120-3.
- Latonnelle K, Le Menn F, Bennetau-Pelissero C. In vitro estrogenic effects of phytoestrogens in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*). *Ecotoxicology.* 2000;9(1/2):115-25.
- Lee MM, Gomez SL, Chang JS, Wey M, Wang RT, Hsing AW. Soy and isoflavone consumption in relation to prostate cancer risk in China. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003;12(7):665-8.
- Lee YB, Lee HJ, Won MH, Hwang IK, Kang TC, Lee JY, Nam SY, Kim KS, Kim E, Cheon SH, Sohn HS. Soy isoflavones improve spatial delayed matching-to-place performance and reduce cholinergic neuron loss in elderly male rats. *J Nutr.* 2004; 134(7):1827-31.
- Lee SA, Shu XO, Li H, Yang G, Cai H, Wen W, Ji BT, Gao J, Gao YT, Zheng W. Adolescent and adult soy food intake and breast cancer risk: results from the Shanghai Women's Health Study. *Am J Clin Nutr.* 2009;89(6):1920-6.
- Lee YB, Lee KH, Sohn HS, Lee SJ, Cho KH, Kang IJ, Kim DW, Shin YK, Pai T, Hwang IK, Won MH. Effects of soy phytoestrogens on reference memory and neuronal cholinergic enzymes in ovariectomized rats. *J Med Food.* 2009; 12(1):64-70.
- Levis S, Strickman-Stein N, Doerge DR, Krischer J. Design and baseline characteristics of the Soy Phytoestrogens As Replacement Estrogen (SPARE) study - A clinical trial of the effects of soy isoflavones in menopausal women. *Contemp Clin Trials.* 2010 doi:10.1016/j.cct.2010.03.007.
- Li JR, Hsieh YH. Traditional Chinese food technology and cuisine. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2004;13(2):147-55.
- Li M, Zhang Z, Hill DL, Chen X, Wang H, Zhang R. Genistein, a dietary isoflavone, down-regulates the MDM2 oncogene at both transcriptional and posttranslational levels. *Cancer Res.* 2005;65(18):8200-8.
- Li Y, Liu L, Andrews LG, Tollefsbol TO. Genistein depletes telomerase activity through cross-talk between genetic and epigenetic mechanisms. *Int J Cancer.* 2009;125(2):286-96.
- Luine V, Attalla S, Mohan G, Costa A, Frankfurt M. Dietary phytoestrogens enhance spatial memory and spine density in the hippocampus and prefrontal cortex of ovariectomized rats. *Brain Res Rev.* 2006; 1126(1):183-7.
- Lund¹ TD, Lephart ED. Dietary soy phytoestrogens produce anxiolytic effects in the elevated plus-maze. *Brain Res.* 2001; 913(2):180-4.
- Lund² TD, Lephart ED. Manipulation of prenatal hormones and dietary phytoestrogens during adulthood alter the sexually dimorphic expression of visual spatial memory. *BMC Neurosci.* 2001; 2:21.
- Lund TD, West TW, Tian LY, Bu LH, Simmons DL, Setchell KD, Adlercreutz H, Lephart ED. Visual spatial memory is enhanced in female rats (but inhibited in males) by dietary soy phytoestrogens. *BMC Neurosci.* 2001; 2:20.
- Lund TD, West TW, Tian LY, Bu LH, Simmons DL, Setchell KD, Adlercreutz H, Lephart ED. Visual spatial memory is enhanced in female rats (but inhibited in males) by dietary soy phytoestrogens. *BMC Neurosci.* 2001;2:20.
- Lydeking-Olsen E, Beck-Jensen JE, Setchell KD, Holm-Jensen T. Soy milk or progesterone for prevention of bone loss--a 2 year randomized, placebo-controlled trial. *Eur J Nutr.* 2004;43(4):246-57.
- Maki PM, Rubin LH, Fornelli D, Drogos L, Banuvar S, Shulman LP, Geller SE. Effects of botanicals and combined hormone therapy on cognition in postmenopausal women. *Menopause.* 2009;16(6):1167-77.
- Mallis LM, Sarkahian AB, Harris HA, Zhang MY, McConnell OJ. Determination of rat oral bioavailability of soy-derived phytoestrogens using an automated on-column extraction procedure and electrospray tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2003;796(1):71-86.
- Mann DR, Gould KG, Collins DC, Wallen K. Blockade of neonatal activation of the pituitary-testicular axis: effect on peripubertal luteinizing hormone and testosterone secretion and on testicular development in male monkeys. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989;68(3):600-7.
- Mann DR, Akinbami MA, Gould KG, Tanner JM, Wallen K. Neonatal treatment of male monkeys with a gonadotropin-releasing hormone agonist alters differentiation of central nervous system centers that regulate sexual and skeletal development. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993;76(5):1319-24.
- Mathey J, Puel C, Kati-Coulibaly S, Bennetau-Pelissero C, Davicco MJ, Lebecque P, Horcajada MN, and Coxam V. Fructooligosaccharides maximize bone-sparing effects of soy isoflavone-enriched diet in the ovariectomized rat. *Calcif Tissue Int* 2004;75(2):169-179.
- McCabe MJ Jr, Orrenius S. Genistein induces apoptosis in immature human thymocytes by inhibiting topoisomerase-II. *Biochem Biophys Res Commun.* 1993;194(2):944-50.
- McMichael-Philips DF, Harding C, Morton M, Roberts SA, Howell A, Potten CS. Effect of soy-protein supplementation on epithelial proliferation in the histologically normal human breast. *Am J Clin Nutr.* 1996;8S:1431-6.
- Mei J, Yeung SSC, Kung AWC. High Dietary Phytoestrogen Intake Is Associated with Higher Bone Mineral Density in Postmenopausal but Not Premenopausal Women. *J. Clin Endocrinol Metab* 2001;86(11):5217-21.
- Messina MJ, Persky V, Setchell KD, Barnes S. Soy intake and cancer risk: a review of the in vitro and in vivo data. *Nutr Cancer.* 1994;21(2):113-31.
- Mielke JG, Mealing GA. Cellular distribution of the nicotinic acetylcholine receptor alpha7 subunit in rat hippocampus. *Neurosci Res.* 2009; 65(3):296-306.
- Monteiro SC, de Mattos CB, Ben J, Netto CA, Wyse AT. Ovariectomy impairs spatial memory: prevention and reversal by a soy isoflavone diet. *Metab Brain Dis.* 2008; 23(3):243-53.
- Morris C, Thorpe J, Ambrosio L, Santin M. The soybean isoflavone genistein induces differentiation of MG63 human osteosarcoma osteoblasts. *J Nutr* 2006;36:1166-1170.
- Murphy PA, Barua K, Hauck CC. Solvent extraction selection in the determination of isoflavones in soy foods. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2002;777(1-2):129-38.
- Nagata C. Ecological study of the association between soy product intake and mortality from cancer and heart disease in Japan. *Int J Epidemiol.* 2000;29(5):832-6.
- Nagata C, Shimizu H, Takami R, Hayashi M, Takeda N, Yasuda K. Soy product intake and serum isoflavonoid and oestradiol concen-

trations in relation to bone mineral density in postmenopausal Japanese women. *Osteoporos Int.* 2002;13(3):200-4.

Nagata C. Associations among maternal soy intake, isoflavone levels in urine and blood samples, and maternal and umbilical hormone concentrations (Japan) Iwasa S, Shiraki M, Ueno T, Uchiyama S, Urata K, Shashi Y, Shimizu H. *Cancer Causes Control.* 2006;17(9):1107-13.

North K, Golding J. A maternal vegetarian diet in pregnancy is associated with hypospadias. The ALSPAC Study Team. Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood. *BJU Int.* 2000;85(1):107-13.

Nurmi T, Mursu J, Peñalvo JL, Poulsen HE, Voutilainen S. Dietary intake and urinary excretion of lignans in Finnish men. *Br J Nutr.* 2010;103(5):677-85.

Obst JM, Seamark RF. Plasma progesterone concentrations during the reproductive cycle of ewes grazing yarloop clover. *J. Reprod. Fert.* 1970;21:545-7.

Pelissero C, Le Menn F. Détermination des taux plasmatiques de stéroïdes sexuels et de vitellogénine chez l'esturgeon sibérien *Acipenser baeri*, élevé en pisciculture. *Annal Comp Rend Acad Sci.* 1988;307(III):749-754.

Pelissero C¹, Le Menn F., Kaushik S. Estrogenic effect of dietary soya bean meal on vitellogenesis in cultured Siberian sturgeon *Acipenser baeri*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 1991;83:447-57.

Pelissero C², Bennetau, B Babin P, Le Menn F, Dunoguès J. The estrogenic activity of certain isoflavones in the Siberian sturgeon *Acipenser baeri*. *J. Steroid. Biochem. Molec. Biol.* 1991;38:293-99.

Pelissero C, Flouriot G, Foucher JL, Bennetau B, Dunoguès J, Le Gac F, Sumpter JP. Vitellogenin synthesis in hepatocyte culture, an *in vitro* test for the estrogenic potency of chemicals. *J. Steroid. Biochem. Molec. Biol.* 1993;44:263-72.

Pelissero C, Lenczowski M, Chinzi D, Sumpter JP, Fostier A. Effects of flavonoids on aromatase activity, an *in vitro* study. *J Steroid Biochem Molec Biol* 1996;57(3/4):215-23.

Peterson J, Lagiou P, Samoli E, Lagiou A, Katsouyanni K, La Vecchia C, Dwyer J, Trichopoulos D. Flavonoid intake and breast cancer risk: a case-control study in Greece. *Br J Cancer.* 2003;89(7):1255-9.

Picherit¹ C., Coxam V., Bennetau-Pelissero C., Kati-Coulibaly S, Davicco, P., Lebecque P. and Barlet J.P. Genistein and daidzein effects on ovariectomy-induced bone loss in rats. *J. Nutr* 2000;130:1675-1681.

Picherit² C, Coxam V, Bennetau-Pelissero C, Kati-Coulibaly S, Davicco MJ, Lebecque P, Barlet JP. Daidzein is more efficient than genistein in preventing ovariectomy-induced bone loss in rats. *J Nutr.* 2000;130(7):1675-81.

Picherit¹ C., Chanteranne B., Bennetau-Pelissero C., Davicco M-J., Lebecque P., Barlet J-P. et Coxam V. Dose-dependant bone-sparing effects of dietary isoflavones in the ovariectomized rat. *Brit. J. Nutr.* 2001;85:307-316.

Picherit², C., Bennetau-Pelissero, C., Chanteranne, B., Lebecque, P., Davicco, M. J., Barlet, J. P. and Coxam, V. Soybean isoflavones Reduce Bone turnover in a dose-dependent manner but are unable to reverse established osteopenia in adult ovariectomized rats. *J. Nutr.* 2001;131:723-728.

Pietinen P, Stumpf K, Männistö S, Kataja V, Uusitupa M, Adlercreutz H. Serum enterolactone and risk of breast cancer: a case-control study in eastern Finland. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001;10(4):339-44.

Possemiers S, Rabot S, Espín JC, Bruneau A, Philippe C, González-Sarrías A, Heyerick A, Tomás-Barberán FA, De Keukeleire D, Verstraete W. *Eubacterium limosum* activates isoxanthohumol from hops (*Humulus lupulus* L.) into the potent phytoestrogen 8-prenylnaringenin *in vitro* and in rat intestine. *J Nutr.* 2008;138(7):1310-6.

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.* 2006;118(5):1316-20.

Puel C, Mardon J, Agalias A, Davicco MJ, Lebecque P, Mazur A, Horcajada MN, Skaltsounis AL, Coxam V. Major phenolic compounds in olive oil modulate bone loss in an ovariectomy/inflammation experimental model. *J Agric Food Chem.* 2008;56(20):9417-22.

Rad M, Hümpel M, Schaefer O, Schoemaker RC, Schleuning WD, Cohen AF, Burggraaf J. Pharmacokinetics and systemic endocrine effects of the phyto-oestrogen 8-prenylnaringenin after single oral doses to postmenopausal women. *Br J Clin Pharmacol.* 1999;62(3):288-96.

Rajah TT, Du N, Drews N, Cohn R. Genistein in the presence of 17beta-œstradiol inhibits proliferation of ERbeta breast cancer cells. *Pharmacology.* 2009;84(2):68-73.

Ramamoorthy S, Nawaz Z. E6-associated protein (E6-AP) is a dual function coactivator of steroid hormone receptors. *Nucl Recept Signal.* 2008;6:e006.

Rassi CM, Lieberherr M, Chaumaz G, Pointillart A, Cournot G. Down-regulation of osteoclast differentiation by daidzein via caspase 3. *J Bone Miner Res* 2002 ;17:630-8.

Rieu D, Bocquet A, Bresson JL, Briend A, Chouraqui JP, Darmaun D, Dupont C, Frelut ML, Ghisolfi J, Girardet JP, Goulet O, Putet O, Rigo J, Turck D, Vidailhet M. Phytoestrogens and soy foods in infants and children: caution is needed. *Arch Ped.* 2006;13:1091-1093.

Ross PD, Norimatsu H, Davis JW, Yano K, Wasnich RD, Fujiwara S, Hosoda Y, Melton LJ 3rd. A comparison of hip fracture incidence among native Japanese, Japanese Americans, and American Caucasians. *Am J Epidemiol.* 1991;133(8):801-9.

Ross PD, Huang C, Davis JW, Wasnich RD. Vertebral dimension measurements improve prediction of vertebral fracture incidence. *Bone.* 1995;16(4 Suppl):257S-262S.

Roudsari AH, Tahbaz F, Hossein-Nezhad A, Arjmandi B, Larjani B, Kimiagar SM Assessment of soy phytoestrogens' effects on bone turnover indicators in menopausal women with osteopenia in Iran: a before and after clinical trial. *Nutr J.* 2005;4:30.

Rowland I, Faughnan M, Hoey L, Wähälä K, Williamson G, Cassidy A. Bioavailability of phyto-oestrogens. *Br J Nutr.* 2003;89:S45-S58.

Rozman KK, Bhatia J, Calafat AM, Chambers C, Culty M, Etzel RA, Flaws JA, Hansen DK, Hoyer PB, Jeffery EH, Kesner JS, Marty S, Thomas JA, Umbach D. NTP-CERHR expert panel report on the reproductive and developmental toxicity of soy formula. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2006;77(4):280-397.

Sathyamoorthy N, Wang TT. Differential effects of dietary phyto-oestrogens daidzein and equol on human breast cancer MCF-7 cells. *Eur J Cancer.* 1997;33(14):2384-9.

Scheiber MD, Liu JH, Subbiah MT, Rebar RW, Setchell KD. Dietary inclusion of whole soy foods results in significant reductions in clinical risk factors for osteoporosis and cardiovascular disease in normal postmenopausal women. *Menopause.* 2001;8(5):384-92.

Setchell KD, Zimmer-Nechemias L, Cai J, Heubi JE. Exposure of infants to phyto-oestrogens from soy-based infant formula. *Lancet.* 1997;5;350(9070):23-7.

- Sharpe RM, Skakkebaek NE. Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *Lancet*. 1993;341(8857):1392-5.
- Sharpe RM, Martin B, Morris K, Greig I, McKinnell C, McNeilly AS, Walker M. 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. *Hum Reprod*. 2002;17(7):1692-703.
- Shu XO, Zheng Y, Cai H, Gu K, Chen Z, Zheng W, Lu W. Soy food intake and breast cancer survival. *JAMA*. 2009;302(22):2437-43.
- Tan KA, 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. *Hum Reprod*. 2006;21(4):896-904.
- Thorp AA, Sinn N, Buckley JD, Coates AM, Howe PR. Soya isoflavone supplementation enhances spatial working memory in men. *Br J Nutr*. 2009;11:1-7.
- Tonetti DA, Zhang Y, Zhao H, Lim SB, Constantinou AI. The effect of the phytoestrogens genistein, daidzein, and equol on the growth of tamoxifen-resistant T47D/PKC alpha. *Nutr Cancer*. 2007;58(2):222-9.
- Traganos F, Ardelt B, Halko N, Bruno S, Darzynkiewicz Z. Effects of genistein on the growth and cell cycle progression of normal human lymphocytes and human leukemic MOLT-4 and HL-60 cells. *Cancer Res*. 1992;52(22):6200-8.
- Tucker KL. Osteoporosis prevention and nutrition. *Curr Osteoporosis Rep*. 2009;7(4):111-7.
- Vergne S, Bennetau-Pelissero C, Lamothe V, Chantre P, Potier M, Asselineau J, Durand M, Garreau JJ, Moore N, Sauvart P. Difference of bioavailability of isoflavones after a single ingestion of soy-based food or soy-based supplement by young male humans *Brit J Nutr*. 2008;99:333-44.
- Vergne S, Sauvart P, Lamothe V, Chantre P, Asselineau J, Perez P, Durand M, Moore N, Bennetau-Pelissero C. Influence of ethnic origin (Asian vs Caucasian), and background diet on the bioavailability of isoflavones. *Brit J Nutr*. 2009;102(11):1642-53.
- Verloop J, van Leeuwen FE, Helmerhorst TJ, van Boven HH, Roo-kus MA. Cancer risk in DES daughters. *Cancer Causes Control*. 2010 Mar 4. DOI: 10.1007/s10552-010-9526-5
- Wang CN, Chi CW, Lin YL, Chen CF, Shiao YJ. The neuroprotective effects of phytoestrogens on amyloid beta protein-induced toxicity are mediated by abrogating the activation of caspase cascade in rat cortical neurons. *J Biol Chem*. 2001; 276(7):5287-95.
- Wang P, Jeng CJ, Chien CL, Wang SM. Signaling mechanisms of daidzein-induced axonal outgrowth in hippocampal neurons. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008; 366(2):393-400.
- Warri A, Saarinen NM, Makela S, Hilakivi-Clarke L. The role of early life genistein exposures in modifying breast cancer risk. *Br J Cancer*. 2008;98(9):1485-93.
- White LR, Petrovitch H, Ross GW, Masaki K, Hardman J, Nelson J, Davis D, Markesbery W. Brain aging and midlife tofu consumption. *J Am Coll Nutr*. 2000; 19(2):242-55.
- Whitsett TG Jr, Lamartiniere CA. Genistein and resveratrol: mammary cancer chemoprevention and mechanisms of action in the rat. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2006;6(12):1699-706.
- Wu AH, Wan P, Hankin J, Tseng CC, Yu MC, Pike MC. Adolescent and adult soy intake and risk of breast cancer in Asian-Americans. *Carcinogenesis*. 2002;23(9):1491-6.
- Zallone A. Direct and indirect estrogen actions on osteoblasts and osteoclasts. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1068:173-9.
- Zhao L, Brinton RD. WHI and WHIMS follow-up and human studies of soy isoflavones on cognition. *Expert Rev Neurother*. 2007;7(11):1549-64.



Institut Français pour la Nutrition, 71 avenue Victor Hugo, 75116 PARIS

Tél. : 01 45 00 92 50, Fax : 01 40 67 17 76

Institut.nutrition@ifn.asso.fr