

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Adibi JJ, Hauser R, Williams PL, Whyatt RM, Calafat AM, Nelson H, et al. *Maternal urinary metabolites of Di- (2-Ethylhexyl) phthalate in relation to the timing of labor in a US multicenter pregnancy cohort study*. Am J Epidemiol. 2009; 169 (8): 1015-24.
- [2] Secretariat of the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants United Nations Environment Programme Chemicals Inter-national Environment H. Ridding the world of POPs: a guide to Stockholm convention on persistant organic polluants. Genève: United Nations Environment Programme, 2005.
- [3] Fillol C, Garnier R, Mullot JU, Boudet C, Momas I, Salmi LR, et al. *Prioritization of the biomarkers to be analyzed in the French biomonitoring program*. Biomonitoring. 2014; 1 (1): 95-104.
- [4] Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation de l'environnement et du travail. *Substitution du bisphénol A - Rapport d'étude*. Maisons-Alfort: 2013 978-2-11-138274-9.
- [5] Schulz C, Wilhelm M, Heudorf U, Kolossa-Gehring M. *Reprint of "Update of the reference and HBM values derived by the German Human Biomonitoring Commission"*. Int J Hyg Environ Health. 2012; 215 (2): 150-8.
- [6] Wittassek M, Wiesmuller GA, Koch HM, Eckard R, Dobler L, Muller J, et al. *Internal phthalate exposure over the last two decades--a retrospective human biomonitoring study*. Int J Hyg Environ Health. 2007; 210 (3-4): 319-33.
- [7] Zota AR, Calafat AM, Woodruff TJ. *Temporal trends in phthalate exposures: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey, 2001-2010*. Environ Health Perspect. 2014; 122 (3): 235-41.
- [8] Fréry N, Guldner L, Saoudi A, Garnier R, Zeghnoun A, Bidondo ML. *Exposition de la population française aux substances chimiques de l'environnement: tome II - Polychlorobiphényles (PCB-NDL)/ Pesticides*. Saint-Maurice Institut de veille sanitaire 2014 978-2-11-131111-4.
- [9] Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Saisine n° 2006-SA-0287. Avis de l'agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'imprégnation corporelle en dioxines des forts consommateurs de produits animaux d'origine locale dans le cadre de l'étude InVS-Afssa de novembre 2006. Maisons-Alfort: 2006.
- [10] Wittsiepe J, Schrey P, Ewers U, Selenka F, Wilhelm M. *Decrease of PCDD/F levels in human blood from Germany over the past ten years (1989-1998)*. Chemosphere. 2000; 40 (9-11): 1103-9.
- [11] Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation de l'environnement et du travail. Saisine n° 2011-SA-0118. Avis de l'agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'interprétation des résultats de l'étude nationale Anes/InVS d'imprégnation aux PCB des consommateurs de poissons d'eau douce. 2011.
- [12] Tard A, Gallotti S, Leblanc JC, Volatier JL. *Dioxins, furans and dioxin-like PCBs: occurrence in food and dietary intake in France*. Food Addit Contam. 2007; 24 (9): 1007-17.
- [13] Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation de l'environnement et du travail. Rapport d'expertise collective: *Évaluation des risques liés à l'exposition aux retardateurs de flamme dans les meubles remboursés - Partie 1: Efficacité contre le risque d'incendie des retardateurs de flamme dans les meubles remboursés*. Maisons-Alfort: Agence nationale de sécurité sanitaire, alimentation, environnement, travail, 2014.

Stress oxydant et estrogènes: impact de la contraception orale et du traitement hormonal substitutif

→ INTRODUCTION

Depuis les découvertes de Chang (*Chang et al. 1956*) démontrant que les 19-nor stéroïdes pouvaient inhiber l'ovulation, plusieurs millions de femmes ont utilisé différents types d'estrogènes et de progestatifs comme moyen de contraception. Par ailleurs, chez les femmes ménopausées, différents types d'hormones stéroïdes (essentiellement œstradiol et estrogènes conjugués), de la progestérone et autres progestines ont été proposés pour se substituer à un ovaire devenant silencieux. Cependant, depuis l'introduction de ces hormones, il n'existe que peu d'études sur l'impact de ces prises d'hormones sur le stress oxydant, et le sujet demeure toujours matière à débat.

→ STRESS OXYDANT: LES NOUVEAUX CONCEPTS

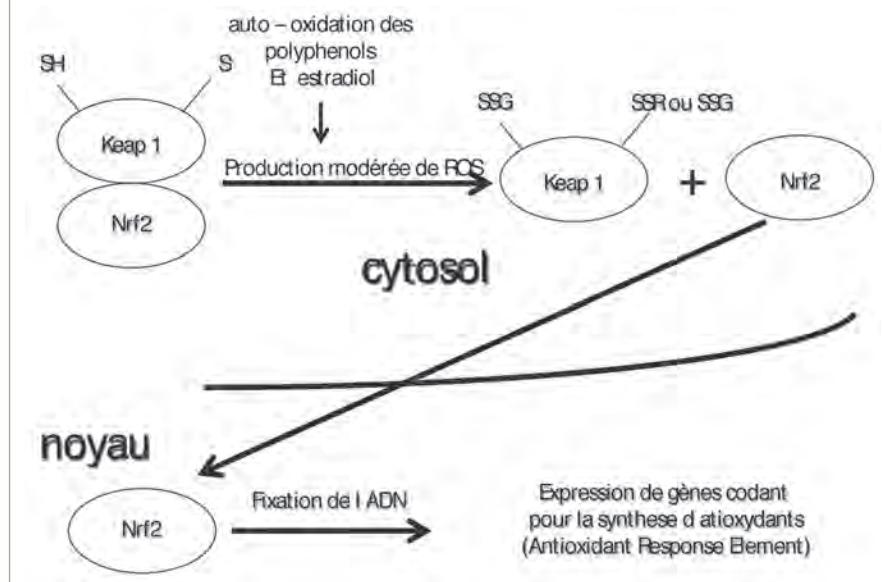
Le stress oxydant a tout d'abord été défini comme un déséquilibre entre les antioxydants circulant et les radicaux libres oxygénés (ROS), en faveur de ces derniers. Du fait de leur très grande réactivité, les ROS, à fortes concentrations, peuvent générer de très graves lésions cellulaires via des dommages générés au niveau des lipides, de protéines et de l'ADN. Les altérations de ces molécules génèrent classiquement de nombreuses pathologies comme l'athérosclérose, pathologies cardiovasculaires, cancer, complications du diabète, dégénérescence maculaire et arthrite. Cependant il a été démontré que les ROS, à de faibles concentrations (physiologiques) sont des effecteurs biologiques "normaux", participant à diverses fonctions dans l'homéostasie cellulaire (stress oxydant physiologique). D'un point de vue

mécanique et finaliste, ceci peut être expliqué par le fait que les ROS sont impliqués dans le contrôle de l'équilibre Red-Ox de la cellule (Ray et al. 2012). Ceci est réalisé par l'oxydation et la réduction des thiols/formation de disulfide, impliquant le glutathion (GSH/GSSG) et la cystéine/cystine (CySH/CySSCy). De ce fait, les ROS agissent comme des seconds messagers régulant l'apoptose, activant des facteurs de transcription et modulant l'expression de gènes impliqués notamment dans les réponses immunitaires. Les scientifiques prêtent une attention soutenue à l'hormèse liée aux ROS. L'hormèse est définie comme une réponse généralement favorable à des expositions de faibles doses d'agents chimiques ou environnementaux générateurs de stress. Ces agents, dommageables à fortes doses, peuvent induire un effet adaptatif favorable à faibles doses. Ainsi, les ROS, à faible concentration, sont capables d'activer la voie Keap1/Nrf2 (Kobayashi et Yamamoto, 2005), qui est directement impliquée dans ARE (*Antioxidant Response Element*); l'expression des gènes codant pour la synthèse des antioxydants enzymatiques dont superoxyde dismutase (SOD), glutamate -cystéine ligase (Gclc), glutathion-S-transferase (GST), heme oxygénase, protéasome, etc. La protection cardiovasculaire des polyphenols est liée à l'effet hormèse; auto-oxydation de la structure phénolique amenant à la production modérée de ROS, plutôt qu'à une interaction directe ROS-polyphénols (Birringer 2011). La cardio-protection de l'exercice physique modéré serait liée à un effet de l'hormèse. Aussi, pour tenir compte de cet effet adaptatif et la physiopathologie, le stress oxydant a été redéfini comme un déséquilibre entre ROS et antioxydants, amenant à une rupture du contrôle des voies de signalisation Red-Ox produisant alors des dommages moléculaires (Sies and Jones, 2007).

MOTS-CLÉS Stress oxydant, Antioxydants, Estrogènes, Contraception orale, Traitements hormonaux substitutifs, Ménopause.

Figure 1 → Voies métaboliques expliquant comment les polyphénols et l'œstradiol peuvent augmenter les défenses antioxydantes via l'activation de la cascade Keap1/Nrf2/ARE.

Une production modérée de ROS due à l'auto-oxydation de ces molécules amène à la cassure du complexe Keap1/Nrf2 du fait d'une oxydation (réversible) de l'entité cystéine de Keap1. Une fois libéré, Nrf2, agissant comme activateur de transcription, migre du cytosol vers le noyau où il se lie à l'ADN. Ceci active la transcription (puis la traduction, dans un deuxième temps) des enzymes de défense antioxydante.



→ **ORIGINES DES STRESS OXYDANTS PATHOLOGIQUES**

Elle peut être endogène (mitochondries, vieillissement, ischémie-re-perfusion, hyperglycémie, excès de fer ou de cuivre, etc.), ou exogène (pollution, notamment par les perturbateurs endocriniens, le tabac, les drogues, l'excès de soleil, les radiations, les nanoparticules, consommation excessive d'oméga 3, etc.). Parmi toutes ces causes, la contraception orale a toujours été, et demeure, matière à controverse.

→ **ACTIVITÉ PRO ET ANTI-OXYDANTE DES ESTROGÈNES**

De nombreuses études essentiellement réalisées *in vitro*, ont montré que les estrogènes, plus particulièrement l'œstradiol, sont capables de réduire les dommages aux lipides exposés à différents ROS (voir Pincemail et al. 2007). Ainsi, Behl et al. (1997) ont pu montrer que le 17beta-œstradiol et certains de ses dérivés sont capables de prévenir l'accumulation de peroxydes lipidiques et la dégénérescence de neurones primaires, des cellules de l'hippocampe dans des tranches d'hippocampe en culture organotypique. Par ailleurs, il a été établi qu'il existe une relation structure activité vis-à-vis de la protection contre le stress oxydant vis-

les observations faites *in vitro* est due en grande partie à l'hétérogénéité des structures chimiques des estrogènes, de leur concentration et autres paramètres des études réalisées.

Des études chez l'animal ont confirmé l'activité antioxydante des estrogènes. De fait, elles ont montré l'importance critique de leur capacité à "up-réguler" l'activité anti-oxydante; ceci expliquant la différence de longévité entre les sexes (Vina et al., 2006). Parmi les différentes explications, la différence dans l'arsenal de défense semble la plus plausible; il concerne notamment les enzymes (Pinto and Bartley 1969; Borras et al., 2003). Il a aussi été montré que la formation d'H2O2 par la mitochondrie est deux fois moindre chez la femelle que chez le mâle (Rat, Borras et al., 2003). *A contrario*, l'ovariotomie restaure l'équilibre entre sexes, et le traitement avec les estrogènes rétablit le déséquilibre observé entre mâles et femelles. En relation avec les observations de Behl et al. (1997), il pourrait être admis que les estrogènes interagissent directement avec les ROS, du fait de leur structure chimique. Mais en accord avec Vina et al. (2006), cela est très peu probable *in vivo*, car les doses recommandées d'œstradiol dans les schémas de substitution hormonale, sont de 50 µg/jour; ce qui représente une dose 8000 fois inférieure à celle de la vitamine E (400 mG/jour) pour exprimer une activité antioxydante. Le concept admis actuellement est plutôt le suivant; les estrogènes

à-vis des neurones. La neuroprotection est liée à la présence d'un groupement hydroxyl en C3 du noyau phénolique et non à la capacité d'activation du récepteur aux estrogènes. Cependant, d'autres études *in vitro* n'ont pas démontré d'activité antioxydante des estrogènes mais au contraire, une activité pro-oxydante (voir Pincemail et al. 2007). Pour Thibodeau et al. (2002), l'apparente discordance observée pour

Table I → Teneurs en Cuivre, ratio cuivre/Zinc et lipides peroxydés chez les utilisatrices de contraceptifs oraux

	Cu (mg/L)	Cu/Zn	Peroxydes lipidiques (µM)
Références	0.80 – 1.55	1 – 1.17	48 - 400
Cerazotte (<i>n</i> = 2)	0.8 +/- 0.1	1.2 +/- 0.2	265 +/- 70
Marvelle (<i>n</i> = 1)	1.09	1.98	366
Diane (<i>n</i> = 3)	1.3 +/- 0.6	1.81 +/- 1.2	713 +/- 391
Mercillon (<i>n</i> = 8)	1.56 +/- 0.4	2.53 +/- 0.7	870 +/- 223
Cilest (<i>n</i> = 5)	1.5 +/- 0.3	2.6 +/- 0.3	942 +/- 175
Triginon (<i>n</i> = 5)	1.3 +/- 0.4	2.6 +/- 0.7	957 +/- 328
Desorelle 20 et 30 (<i>n</i> = 6)	1.6 +/- 0.4	2.8 +/- 0.8	960 +/- 165
Trimulet + triiodene (<i>n</i> = 11)	1.5 +/- 0.4	2.7 +/- 0.9	966 +/- 250
Microgenon (<i>n</i> = 3)	1.9 +/- 0.8	3.7 +/- 1.7	969 +/- 405
Femodene (<i>n</i> = 3)	1.7 +/- 0.4	3.0 +/- 0.8	1093 +/- 149
Meliiane (<i>n</i> = 1)	2.77	4.13	> 900

exercent leur activité indirectement via une activation de certaines voies dépendantes de la production modérée de ROS. De fait, estrogènes et phyto-estrogènes (*genistein*) sont capables d'up-réguler l'expression de certaines enzymes à capacité anti-ROS (Mn-SOD et glutathion peroxidase) via l'activation de ERK1 et ERK2 (MAPK)/NF-kappaB cascade (facteur de transcription) qui amène à la transcription des gènes correspondants. Cette hypothèse est renforcée par la démonstration de leur implication dans la voie Keap1/Nrf2 aussi impliquée dans l'up-régulation de *Antioxidant Response Element* (ARE), facteur de transcription amenant à l'expression de gènes impliqués dans la défense contre les ROS. Les estrogènes régulent la cascade des synthèses des antioxydants en réponse à une production modérée de ROS. Ces observations suggèrent bien un rôle des estrogènes dans l'augmentation de la longévité via l'hormèse, comme le font les polyphénols (Birringer, 2011). L'analogie de structure entre ces composés implique qu'ils peuvent générer une production faible de ROS via une auto-oxydation du groupement Hydroxyl (OH) en C3 du noyau phénolique A.

Cependant, indépendamment de ces effets favorables, les effets inverses des estrogènes: génération des cancers génitaux, thromboses, embolies et autres désordres cardiovasculaires ont été décrits de façon paradoxale et non anecdotique (Rossouw et al., 2002). Les estrogènes peuvent être convertis en catéchol-estrogènes, précurseurs des quinones qui peuvent subir un processus d'oxydation-réduction générant des semiquinones et des ROS susceptibles d'altérer la qualité de l'ADN (Nathan and Chaudhuri, 1998). Gomez-Zubeldia et al. (2001) ont étudié l'influence de doses croissantes d'estrogènes chez la ratte ovariotomisée (4, 8 et 16 µg/J pendant 15 jours) sur la peroxydation des lipides sanguins (dosage de la malonodialdehyde; MDA, formée par la peroxydation des lipides). Ils ont observé qu'au-dessus et en dessous d'une concentration de 57,6 pg/mL d'estadiol dans le sang, la formation de MDA augmente formant une courbe en U typique. Ceci confirme totalement la capacité pro et antioxydante des estrogènes. L'effet hormèse de la formation des catechol estrogènes autour de la valeur optimum d'estadiol reste cependant à confirmer. La limite de cette

Table II → Comparaison des niveaux de stress oxydant entre les femmes sous contraceptifs oraux (OC); âge moyen 45,8 +/- 3,9 ans et les femmes sous traitement hormonal substitutif (THS); âge moyen: 54,2 +/- 3,8 ans (Étude ELAN)

	THS (n = 132)	OC (n = 62)	Statistique	Valeur de référence (LIEGE)
Vitamin C (µg/mL)	10.8 +/- 3.66	10.9 +/- 4.1	ns	8.6 – 18.83
Alfa-tocopherol (µg/mL)	13.8 +/- 3.3	13.2 +/- 2.74	ns	8.60 – 19.24
Gamma – tocopherol (µg/mL)	1.03 +/- 0.40	0.84 +/- 0.34	< 0.002	0.28 – 2.42
Beta – carotene (mg/L)	0.36 +/- 0.30	0.26 +/- 0.22	< 0.02	0.05 – 0.68
Thiols protéines (µM)	404 +/- 86	391 +/- 71	ns	310 – 523
Selenium (µg/l)	95.6 +/- 19.0	95.4 +/- 17.5	ns	94 – 130
Cuivre (mg/L)	1.08 +/- 0.26	1.52 +/- 0.43	< 0.0001	0.80 – 1.55
Zinc (mg/L)	0.59 +/- 0.10	0.58 +/- 0.10	ns	0.70 – 1.20
Cu/Zn ratio	1.86 +/- 0.48	2.67 +/- 0.86	< 0.0001	1 – 1.17
Peroxydes lipidiques (µM)	513 +/- 200	881 +/- 262	< 0.0001	48 – 400
LDL oxydées (ng/mL)	365 +/- 570	315 +/- 375	0.79	0 – 500
Anticorps anti LDL (UI/L) oxydées	291 +/- 333	404 +/- 405	< 0.05	200 – 600

étude réside dans le fait que le dosage de la MDA n'est peut-être pas le paramètre le plus adéquat pour mesurer la peroxydation des lipides sanguins.

→ STRESS OXYDANT ET CYCLE MENSTRUEL

En 2010, Schisterman et al. ont publié les résultats de l'étude BioCycle, une étude prospective concernant 259 femmes en bonne santé, âgées de 18 à 44 ans et ayant des cycles menstruels réguliers dans l'état de New York. Les patientes ont été suivies pendant deux cycles successifs quant aux marqueurs du stress oxydant en fonction de leurs valeurs hormonales. Les valeurs des isoprostanes-F2 sont les plus hautes au moment de l'ovulation et les plus faibles pendant la phase pré-ovulatoire. En pondérant et en tenant compte de l'âge, de la race, du gamma-tocophérol, du bêta-carotène, du cholestérol total et enfin de l'homocystéine, la concentration en estradiol est corrélée positivement avec les concentrations en isoprostan F2 au cours du cycle sexuel ($p < 0.001$). Ha and Smith (2003) ont observé que la concentration sanguine en sélénium (mais aussi l'activité Glutathion peroxydase) variait de façon synchrone avec les niveaux d'estrogènes circulant, chez les femmes en âge de procréer (valeurs plus élevées respectivement de 14,2 et 11,3 %

au moment de l'ovulation, par rapport à la phase folliculaire et mid-lutéale). Le pic de Sélénium coïncide strictement avec celui de l'œstradiol 17 β ($P < 0.0001$). La conjonction de ces observations tend à prouver qu'au cycle menstruel sont associées la génération de ROS et une réponse antioxydante. Ces variations liées au cycle menstruel constituent une source de variations qui peuvent amener à des erreurs d'interprétations quant au stress oxydant et aux réactions de protection contre ceux-ci, chez les femmes non ménopausées.

→ STRESS OXYDANT ET CONTRACEPTION

De façon étonnante, les études concernant la prise orale de contraceptifs stéroïdiens et la relation avec le stress oxydant sont peu fournies. Les premières études ont montré une augmentation de la peroxydation des lipides sanguins responsable d'une augmentation de l'agrégation plaquettaire chez les rongeurs soumis à l'ingestion de contraceptifs oraux (OC). Parallèlement se produit une chute continue de la teneur plasmatique en bêta-carotène, chez les femmes sous OC, et plus particulièrement chez les femmes de plus de 35 ans (voir Pincemail et al 2007). Dans l'étude ELAN (Étude Liégeoise sur les Antioxydants) conduite par notre groupe

en 2006, 209 femmes âgées de 40 à 48 ans ont été testées quant au stress oxydant; analyse des antioxydants, des minéraux et des marqueurs de la peroxydation des lipides (Pincemail et al, 2007). 49 (23 %) des femmes suivaient une contraception orale (OCU), 119 n'utilisaient pas de contraceptifs oraux (NCU) et 41 (20 %) portaient un stérilet (Cuivre et hormone, IUD). Après pondération en fonction du tabagisme, de la pression artérielle et du BMI (*Body mass index*, ou tour de taille), une augmentation très significative de la peroxydation lipidique (mesurée par le kit Oxystat, Biomedica Gruppe, Austria) est observée dans le groupe OCU (878 +/- 274 μ M), comparé au groupe NCU (493 +/- 196 μ M) et IUD (377 +/- 192 μ M).

Ces observations ont été ensuite confirmées au Japon et en Italie (Chen and Kotani, 2012; Massart et al., 2012; Finco et al., 2011, 2012). Par contre, aucune différence n'est observée dans le plasma pour les LDL peroxydées et leurs anticorps. Quand on compare les groupes NCU et IUD, on observe une décroissance des défenses antioxydantes dans le plasma pour le groupe OCU, notamment pour le bêta-carotène (chute de 39 %, $p < 0.01$) et le gamma tocopherol (-22 %, $p < 0.01$). Pour la valeur du bêta-carotène, la valeur atteinte de 0,22 mG/L est considérée à risque pour les maladies cardiovasculaires et le cancer (Gey, 1994). Une analyse multivariée a permis de constater un effet cumulatif associé au tabac, au surpoids, à l'absence d'activité physique, à la consommation insuffisante de fruits, à l'OCU et à la valeur du bêta-carotène circulant (Pincemail et al., 2011). Par ailleurs l'étude ELAN n'a

pas montré de modification des valeurs sanguines de la vitamine C, le Gamma-tocophérol et du Zinc, liées à l'OCU. En accord avec les travaux de Massafra et al. (1993), l'OCU augmente les valeurs circulantes du Selenium (+18 %, $p < 0.01$) et du Cuivre (+53 %, $p < 0.0001$). De plus, nous avons pu montrer qu'à l'augmentation du Cuivre est associée une forte peroxydation lipidique ($r < 0.84$, $p < 0.0001$). Le tableau 1 résume les variations de la peroxydation lipidique, du Cuivre et du rapport Cu/Zn en fonction des pilules contraceptives utilisées. Dans la plupart des cas, tous ces paramètres sont très largement au-dessus des valeurs standards. Russ and Raymund avaient décrit dès 1956, à l'époque de la découverte du rôle des estrogènes dans la reproduction, que les estrogènes augmentent la teneur en Cu du sérum avec en parallèle une augmentation de la Céroloplasmine (protéine transportant le Cuivre). Selon Kluft et al. (2002), les préparations contenant des estrogènes génèrent la synthèse très rapide de protéines dans le foie. L'OCU provoquerait une sur-expression de la Céroloplasmine (Limpongsanurak et al., 1981). Dans une récente méta-analyse (Babic et al. (2013), il a été déterminé que, que dans l'OCU, la valeur moyenne du Cuivre circulant atteint 1,5 à 2 mG/L, très largement au-dessus des valeurs des NCU (Pincemail et al. 2007). Toutes les études montrent à l'heure actuelle qu'à un haut niveau de Cu dans le sang, sont associées de nombreuses maladies cardiovasculaires et la gravité de leur progression (Kang 2011). Ce serait plutôt l'interaction Homocysteine-Cuivre que le cuivre seul qui serait responsable

de ces pathologies cardiaques. En effet, le cuivre circulant libre serait trop faible pour générer la formation de radicaux libres via la réaction de Fenton.

En conclusion, l'utilisation des contraceptifs stéroïdiens oraux provoque une augmentation du stress oxydant, comme le montre l'augmentation de la peroxydation lipidique, et une baisse des défenses comme le montre la chute du bêta-carotène et du gamma tocophérol. Ceci amène à une augmentation des risques des pathologies cardiovasculaires et peut amener à se poser des questions sur la sécurité des utilisatrices quant aux thromboses et autres pathologies cardiovasculaires (Rosenberg et al., 1997; Gourdy et al., 2012; Eichinger et al., 2013). Les risques encourus peuvent être visualisés par l'iconographie "Chernoff faces" (Tabart et al., 2013). Chaque variable mesurée dans l'étude ELAN (voir Pincemail et al. 2007 et tableau I) est associée à des caractéristiques faciales (sourire, nez, forme de la tête, etc.). Les humains sont, d'une façon générale, très attachés aux expressions faciales (Pierre de Marivaux, Marianne). Il est clair que selon ce schéma, les visages représentant le groupe OCU semblent très nettement moins attrayants que les NCU et les IUD (*Figure 2*).

→ UTILISATION DES ANTIOXYDANTS CHEZ LES UTILISATRICES DE CONTRACEPTIFS ORAUX (OC)

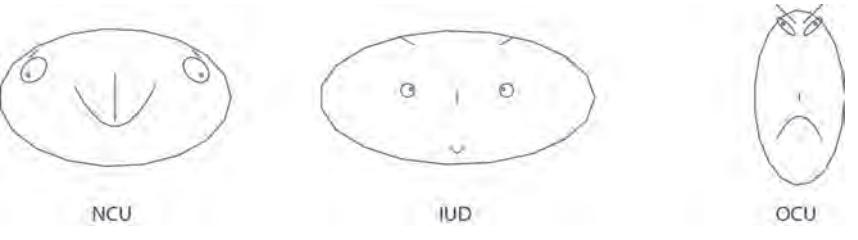
Les observations sont très peu nombreuses. Dans un groupe de 80 femmes OC (âge: 18 - 40 ans) sous contraceptifs oraux (0,03 mg éthynodédrostrol et 0,15 mg levonorgestrel, pendant 21 jours et 7 jours d'arrêt), Zal et al. (2012) ont évalué les effets de la supplémentation en vitamine C (150 mg) et E (200 IU ou 134 mg) sur les marqueurs sanguins du stress oxydant. Ce groupe a été comparé à un groupe NCU (sans contraceptifs oraux) de 40 femmes. OC augmente le taux de MDA dans le plasma et décroît les activités glutathion peroxydase (GPX) et glutathion reductase (GR). La supplémentation vitaminique pendant 4 semaines, du groupe OC induit une augmentation de GPX et GR, associée à une décroissance de la MDA ($p < 0.05$), par rapport au groupe NCU. Cependant cette expérimentation amène deux critiques: la MDA est mesurée par le TBARS, méthode qui manque de spécificité et de sensibilité et il est reconnu que l'ingestion de vitamine

Figure 1 → Les Faces de Chernoff

OCU: utilisatrices de contraceptifs oraux, **NCU**: aucune contraception et **IUD**: stérilet.

À chaque variable du stress oxydant est associée une caractéristique de la face (Pincemail et al. 2007 et tableau I).

Peroxydes lipidiques; surface du visage; Ratio Cu/Zn forme du visage; ratio a-tocophérol/g-tocophérol; longueur du nez; a-tocophérol; position de la bouche; Sélenium; courbure de la bouche; thiol protéines; largeur de la bouche; Zinc; position des yeux; ratio vitamine C/a-tocophérol; distance entre les yeux; vitamine C; angle des yeux; Cuivre; forme des yeux; b-carotène; épaisseur des yeux; g-tocophérol; positionnement des sourcils; DDL oxydées; épaisseur des sourcils; anticorps anti LDL oxydées; angle des sourcils; Cholestérol; positionnement des pupilles.



À des doses supérieures à 100 mg/J augmente les risques de mortalité (Miller et al., 2005). Lors d'une autre expérimentation clinique (Finco et al. 2011), sur 10 femmes (27-35 ans) OC (50 mg ethinylestradiol and 125 mg levonorgestrel), deux modulateurs du stress oxydant ont été testés. L'une MF Templan® (contenant une forte concentration de catéchines) testée pendant 27 jours permet une chute des peroxydes lipidiques de 50 %. L'autre ARd Stenovit® (vitamines C et E, bêta-carotène, ubiquinone, sélénium, zinc, bioflavonoids d'agrumes) est sans effets.

→ TRAITEMENTS HORMONIAUX SUBSTITUTIFS (THS) ET STRESS OXYDANT

La chute des estrogènes associée à la ménopause est source d'augmentation des risques cardiovasculaires. Aussi, les traitements substitutifs (THS) ont été proposés pour diminuer ces risques (et autres effets comme les bouffées de chaleur), mais cela n'est pas sans soulever des controverses.

Dans une étude réalisée chez 186 femmes africaines, Ogunro et al. (2014) ont mis en évidence une augmentation du stress oxydant en péri-ménopause et en ménopause vraie par rapport à leur phase de fertilité; la teneur en MDA augmente, tandis que baisse la concentration en glutathion, SOD et GPX. Un très grand nombre d'études a montré que les THS diminuent la peroxydation des lipides, des protéines et de l'ADN (Telci et al., 2002; Castanho et al., 2011; Polac et al., 2012; Sanchez Rodriguez et al., 2013; Escalante Gomez et Quesada Mora, 2013). En parallèle se produit une augmentation des défenses antioxydantes (en particulier enzymatiques, Shafin et al., 2013; Unfer et al., 2014). Aux bouffées de chaleur sont associés des pics de stress oxydant (Leal et al. 2000). Les THS, comme mentionné précédemment, bloquent ces deux paramètres délétères. Dans notre étude ELAN (Pincemail et al., 2007), nous avons pu déterminer que les femmes (âge 54,2 +/-3,8 ans) sous THS ont un meilleur profil de stress oxydant que des femmes plus jeunes (45,8 +/-3,9 ans) sous contraceptifs oraux (*tableau II et figure 2*). Les valeurs du γ tocophérol et du β carotène sont significativement augmentées tandis que les taux du cuivre, des lipides peroxydés, des anticorps anti-LDL oxydée et le ratio Cu/Zn diminuent. Chez les femmes ménopausées, l'œstradiol en

patches (50 microgrammes/j) pendant 4 semaines, avec ou sans medroxyprogesterone acétate (5 mg/J) fait chuter les taux d'isoprostanes dans les urines (Hermenegildo et al. 2008). Cet effet est neutralisé par la progestérone micronisée (300 mg/J), mais il ne se produit pas si elle est associée à de l'estradiol pris par voie orale. Cette étude est intéressante car elle permet de matérialiser les effets cardio-protecteurs des traitements substitutifs. En effet, le dosage des isoprostanes est considéré comme le "golden standard" de l'évaluation de la peroxydation lipidique et constitue le marqueur le plus fiable du stress oxydant *in vivo* (Cracowsk et al., 2002). Mais si ce dosage n'est pas un marqueur spécifique des risques cardiovasculaires (Davies SS and Roberts LJ 2nd, 2011; Zhang, 2013), chez la femme ménopausée, il semble essentiel. En effet, Roesti et al. (2008), ont pu mettre en évidence, dans une étude prospective de 18 ans, que les femmes ayant des taux urinaires d'isoprostanes (8-iso PGF 2α) élevés ont un risque plus élevé de 80 %, de faire des attaques cardiaques (et d'en décéder) que celles ayant un taux urinaire faible. Bien que l'on admette généralement que les THS diminuent les risques cardiovasculaires, quelques études (*Women's Health Initiative*) suggèrent le contraire avec un risque augmenté de pathologies coronariennes, d'attaques et une diminution des capacités cognitives (Rossouw, 2002). Il est possible d'expliquer ces controverses de deux façons: récemment, Lopez-Grueso et al. (2014) ont expliqué l'absence d'efficacité des THS sur la ratte ovariotomisée par l'existence d'une "fenêtre d'efficacité". Pour eux, un traitement avec l'œstradiol immédiatement après ovariotomie efficace pour empêcher la genèse d' H_2O_2 par les mitochondries, l'oxydation des lipides, la décroissance des activités GPX et Catalase. Quand le THS est démarré trois semaines après ovariotomie, il n'est plus efficace. Aussi, on peut conclure que chez la femme ménopausée le THS est inefficace s'il est pris trop tard après le début de la ménopause.

White et al. (2010) ont proposé une nouvelle hypothèse pour expliquer pourquoi les THS pourraient augmenter les risques cardiovasculaires. L'*action princeps* des estrogènes est la régulation de NO (nitric Oxyde) au travers de l'expression de la nitric oxide synthase (NOS). Dans les conditions normales, chez la femme jeune, NO exerce une activité bénéfique sur

l'activité cardiovasculaire. Chez la femme plus âgée, NOS formerait plutôt des anions superoxydes plutôt que NO. C'est l'équilibre entre ces deux types de composés qui pourrait être la source de cette dualité d'action de l'œstradiol. Certains auteurs proposent une alternative. Si le stress oxydant est en cause, l'augmentation des défenses antioxydantes associée au THS serait une possibilité, afin notamment de remédier aux effets indésirables de la ménopause comme les bouffées de chaleur. Miquel et al. (2006) ont observé des effets très positifs en supplémentant en vitamine B6, participant à la synthèse du glutathion via le "one carbon cycle", un précurseur du glutathion la thioproline, des phyto-estrogènes de soja (isoflavones) et un extrait hydro-alcoolique de C. Longa (ZCL4) contenant une forte teneur en co-antioxydants phénoliques. Par ailleurs, le lycopène (famille des caroténoïdes) *per os* pendant six mois réduit le stress oxydant chez la femme ménopausée de façon similaire aux THS (Misra et al. 2006), tout comme un supplément à base de lait de soja contenant des isoflavones (113-207 mG) qui réduit le taux d'isoprostanes urinaires chez la femme préménopausée (Nhan et al., 2015).

→ CONCLUSIONS

Le rôle et les mécanismes d'action des estrogènes dans la régulation du stress oxydant sont complexes. Un grand nombre d'études *in vitro* ont mis en évidence des effets antioxydants mais qui ne sont pas vraiment réalistes compte tenu des doses utilisées peu conformes à la situation *in vivo*. Les études les plus récentes chez l'animal sont plutôt en faveur d'une activité pro-oxydante modérée "red-ox signalling" qui induit en réponse une augmentation de l'expression des enzymes antioxydantes. Il est logique de penser que l'effet cardio-protecteur est lié à la stimulation des défenses antioxydantes. Cette hypothèse a le mérite d'être cohérente avec la meilleure longévité de la femme (Vina et al., 2006). Cependant, la situation est complexe chez la femme et l'utilité des traitements substitutifs a été fortement mise en cause compte tenu du risque de pathologies cardiaques encouru. Le moment du commencement du THS et la relation activité et découplage NOS et estrogènes sont deux voies à approfondir pour mieux comprendre la dualité des effets des estrogènes. Ceci pose quand même aussi la question de la contracep-

tion orale associée à une forte élévation du stress oxydant marqué par une très forte augmentation du cuivre circulant et de la peroxydation des lipides avec, en simultané, une diminution des défenses

antioxydantes. Il apparaît nécessaire de tester un grand nombre de paramètres du stress oxydant et de ses défenses chez les jeunes femmes sous contraception et sous THS compte tenu des effets cardio-

vasculaires. L'utilisation des "Chernoff faces" pourrait sans doute être utile pour évaluer les avantages et les risques des contraceptifs oraux et des traitements hormonaux substitutifs chez la femme. •

→ BIBLIOGRAPHIE

- [1] Babic Z, Tariba B, Kovacic J et al. (2013). *Relevance of serum copper elevation induced by oral contraceptives: a meta - analysis*. Contraception, 87: 790-780.
- [2] Behl C, Skutella T, Lezoualc'h F et al. (1997). *Neuroprotection against oxidative stress by estrogens: structure-activity relationship*. Molecular Pharmacology, 51: 535-541.
- [3] Birringer M. (2011). *Hormetics: dietary triggers of an adaptive response*. Pharmacol Res, 28: 2680-2694.
- [4] Borras C, Sastre J, Garcia-Sala D et al. (2003). *Mitochondria from females exhibit higher antioxidant genes expression and lower oxidative stress damage than males*. Free Rad Biol Med, 34: 546-552.
- [5] Borras C, Gambini J, Gomez - Cabrera MC et al. (2005). *17 β-estradiol up-regulates longevity related, antioxidant enzyme expression via the ERK1 and ERK2 (MAPK)/NFκappaB cascade*. Aging Cell, 4: 113-118.
- [6] Castanho VS, Gidlund M, Nakamura R et al. (2011). *Post-menopausal hormone therapy reduces antibodies to oxidized apolipoprotein B100*. Gynecol Endocrinol, 27: 800-806.
- [7] Chang MC, Hafez ES, Merrill A et al. (1956). *Effect of certain 19-nor steroids on reproductive process in animals*. Science, 124: 890 - 891.
- [8] Chen JT and Kotani K (2012). *Oral contraceptive therapy increases oxidative stress in pre-menopausal women*. Int J Prev Med, 3: 893-896.
- [9] Cracowski JL, Durand T, Bessard G et al. (2002). *Isoprostanes as a biomarker of lipid peroxidation in humans: physiology, pharmacology and clinical implications*. Trends in Pharmacological Sciences, 23: 360-366.
- [10] Davies SS, Roberts LJ 2nd (2011). *F2-isoprostanes as an indicator and risk factor for coronary heart disease*. Free Radic Biol Med. 50: 559-566.
- [11] Escalante Gomez C and Quesada Mora S (2013). *HRT decreases DNA and lipid oxidation in postmenopausal women*. Climacteric, 16: 104-110.
- [12] ESHRE Capri Workshop Group, Eichinger S, Evers JL, Glasier A et al. (2013). *Venous thromboembolism in women: a specific reproductive health risk*. Hum Reprod Update, 19:471-19482.
- [13] Finco A, Belcaro G and Cesarone MR (2011). *Assessment of the activity of an oral contraceptive on the levels of oxidative stress and changes in oxidative stress after co-treatment with two different types of physiological modulators with antioxidant action*. Contraception, 84: 418-422.
- [14] Finco A, Belcaro G and Cesarone MR (2012). *Evaluation of oxidative stress after treatment with low estrogen contraceptive either alone or associated with specific antioxidant therapy*. Contraception, 85: 503-508.
- [15] Gey KF. (1994). *Optimum plasma levels of antioxidant micronutrients - ten years of antioxidant hypothesis on atherosclerosis*. Bibl Nutr Diet, 51: 84 - 89.
- [16] Gómez-Zubeldia MA, Arbués JJ, Hinchado G et al. (2001). *Influence of estrogen replacement therapy on plasma lipid peroxidation*. Menopause, 8: 274-280.
- [17] Gourdy P, Bachelot A, Catteau-Jonard S et al. (2012). *Hormonal contraception in women at risk of vascular and metabolic disorders: guidelines of the French Society of Endocrinology*. Ann Endocrinol (Paris), 73: 469-487.
- [18] Ha EJ and Smith AM. (2003). *Plasma selenium and plasma and erythrocyte glutathione peroxidase activity increase with estrogen during the menstrual cycle*. J Am Coll Nutr., 22: 45 - 51.
- [19] Hermenegildo C, Oviedo PJ, Laguna A's et al. (2008). *Transdermal estradiol reduces F2-isoprostane levels in postmenopausal women*. Menopause, 15: 714-717.
- [20] Kang YJ, 2011. *Copper and homocysteine in cardiovascular diseases*. Pharmacology & Therapeutics, 129: 321 - 331.
- [21] Kluit C, Leuven JA, Helmerhorst FM et al. (2002). *Pro-inflammatory effects of estrogens during use of oral contraceptives and hormone replacement therapy*. Vascul Pharmacol, 39: 149 - 154.
- [22] Kobayashi M and Yamamoto M (2005). *Molecular mechanisms activating the Nrf2-Keap1 pathway of antioxidant gene regulation*. Antiox Redox Signaling, 7: 385-394.
- [23] Leal M, Diaz J, Serrano E et al. (2000). *Hormone replacement therapy for oxidative stress in postmenopausal women with hot flushes*. Obstet Gynecol, 95: 804-809.
- [24] Limpongsanurak S, Jenkins N and Fotherby K. (1981). *Effect of contraceptive steroids on serum levels of sex hormone binding globulin and caeruloplasmin*. Curr Med Res Opin, 7: 185 - 191.
- [25] Lopez-Gruesco R, Gambini J, Abdellaziz KM et al. (2014). *Early, but not late onset of estrogen replacement therapy prevents oxidative stress and metabolic alterations caused by ovariectomy*. Antioxid. Redox Signal, 20: 236-246.
- [26] Massafra C, Buonocore G, Berni S et al. (1993). *Antioxidant erythrocyte enzyme activities during oral contraception*. Contraception, 47: 591 - 596.
- [27] Massart A, Portier H, Rosado F et al. (2012). *Lipid peroxidation in Judoists using oral contraceptives*. Int J Sports Med, 33: 781-788.
- [28] Miquel J, Ramírez-Bosca A, Ramírez-Bosca J et al. (2006). *Menopause: A review on the role of oxygen stress and favorable effects of dietary antioxidants*. Arch Gerontol and Geriatrics, 42: 289-306.
- [29] Miller ER III (2005). *Meta-analysis: high dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality*. Ann Intern Med, 142: 37-46.
- [30] Misra R, Mangi S, Joshi S et al. (2006). *LycoRed as an alternative to hormone supplementation therapy in lowering serum lipids and oxidative stress markers: a randomized controlled clinical trial*. J Obstet Gynaecol Res, 32: 299-304.
- [31] Nathan L and Chaudhuri G. (1998). *Antioxidant and prooxidant actions of estrogens: potential physiological and clinical implications*. Semin Reprod Endocrinol, 16: 309-314.
- [32] Nhan S, Anderson KE, Nagamani M et al. (2015). *Effect of soymilk supplement containing isoflavones on urinary F2 isoprostane levels in premenopausal women*. Nutrition and Cancer, 53: 73-81.
- [33] Ogurno PS, Bolarinde AA, Owa OO et al. (2014). *Antioxidant status and reproductive hormones in women during reproductive, perimenopausal and postmenopausal phase of life*. Afr J Med Sci 43: 49-57.
- [34] Pincemail J, Van Belle S, Gaspard U et al. (2007). *Effect of different contraceptive methods on the oxidative stress status in women aged 40 - 48 years from the ELAN study in the province of Liège, Belgium*. Human Reproduction, 22: 2335-2343.
- [35] Pincemail J, Van Belle S, Degrune F et al. (2011). *Lifestyle behaviours and plasma vita- min C and β-Carotene levels from the ELAN Population (Liège, Belgium)*. J Nutr Metab. doi:10.1155/2011/494370.
- [36] Pinto RE and Bartley (1969). *The nature of sex-linked differences in glutathione peroxidase activity and aerobic oxidation of glutathione in male and female rat liver*. Biochem J, 115: 449-456.
- [37] Polac I, Borowiecka M, Wilamowska et al. (2012). *Oxidative stress measured by carbonyl groups level in postmenopausal women after oral and transdermal hor-*
- [38] Ray PD, Huang BW and Tsuji Y. (2012). *Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling*. Cell Signal, 24: 981-90.
- [39] Rosenberg L, Palmer JR, Sands MI et al. (1997). *Modern oral contraceptives and cardiovascular diseases*. Am J Obstet Gynecol, 177: 707 - 715.
- [40] Roest M, Voorbij H, Van der Schouw Y et al. (2008). *High levels of urinary F2-isoprostanes predict cardiovascular mortality in postmenopausal women*. J Clin Lipidology, 2: 298-303.
- [41] Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL et al. (2002). *Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial*. JAMA, 288: 321-333.
- [42] Russ EM and Raymund J. (1956). *Influence of oestrogen on total serum copper and ceruloplasmin*. Proc Soc Exp Biol Med, 92: 465 - 466.
- [43] Sanchez Rodriguez MA, Zácarias Flores M, Arromante Rosales A et al. (2013). *Effect of hormone therapy with estrogens on oxidative stress and quality in postmenopausal women*. Ginecol Obstet Mex, 81: 11-22.
- [44] Schisterman EF, Gaskins AJ, Mumford SL et al. (2010). *Influence of endogenous reproductive hormones on F2-isoprostane levels in premenopausal women: the BioCycle study*. Am J Epidemiol, 172: 430-439.
- [45] Shafin N, Zakaria R, Hussain NH et al. (2013). *Association of oxidative stress and memory- performance in postmenopausal women receiving estrogen-progestin therapy*. Menopause, 20: 661-666.
- [46] Sies H and Jones DP (2007). *Oxidative stress*. In: *Fink G, editor Encyclopedia of stress*. SanDiego, Elsevier, pp 45-48.
- [47] Tabart J, Kevers C, Dardenne V et al. (2013). *Deriving a global antioxidant score for commercial juices by multivariate graphical and scoring techniques*. In "Applications to blackcurrant juice. Composition and Characteristics of An- tioxidants in Beverages", Academic Press. Victor Preedy, Eds, 2013, pp 301-307.
- [48] Telci A, Cakatay U, Akhan SE et al. (2002). *Postmenopausal hormone replacement therapy decreases oxidative protein damage*. Gynecol Obstet Invest, 54: 88-93.
- [49] Thibodeau PA, Kachadourian R, Lemay R et al. (2002). *In vitro pro- and antioxidant properties of estrogens*. J Steroid Biochem Mol Biol, 81: 227 - 236.
- [50] Unfer TC, Figueiredo CG, Zanchi MM et al. (2014). *Estrogen plus progestin increase superoxide dismutase and total antioxidant capacity in postmenopausal women*. Climacteric, 12: 1-10.
- [51] Vina J, Sastre J, Pallardo FV et al. (2006). *Role of mitochondrial oxidative stress to explain the different longevity between genders*. Free Rad Res, 40: 1359-1365.
- [52] White RE, Gerry R, Barman SA et al. (2010). *Estrogen and oxidative stress: a novel mechanism that may increase the risk for cardiovascular disease in women*. Steroids, 75: 788-793.
- [53] Wu J, Williams D, Walter GA, Thompson WE et al. (2014). *Estrogen increases Nrf2 activity through activation of the PI3K pathway in MCF-7 breast cancer cells*. Exp Cell Res, 328: 351-360.
- [54] Zal F, Mostafavi-Pour Z, Amini F et al. (2012). *Effect of vitamin E and C supplements on lipid peroxidation and GSH-dependent antioxidant enzyme status in the blood of women consuming oral contraceptives*. Contraception, 86: 62-66.
- [55] Zhang ZJ (2013). *Systematic review on the association between F2-isoprostanes and cardiovascular disease*. Ann Clin Biochem, 50: 108-114.