

Isoflavonien turvallisuus ja tutkimuksen haasteet

→ **Jenni Küblbeck***

FT, Projektitutkija
jenni.kublbeck@uef.fi

Itä-Suomen yliopisto
Farmasian laitos
Yliopistonranta 1C
70210 Kuopio

→ **Marjo Huovinen**

FT, Yliopistotutkija
marjo.huovinen@uef.fi

*Kirjeenvaihto

TIIVISTELMÄ

Erilaisten ravintolisien lisääntynyt käyttö on nostanut aiheellisesti myös huolen niiden turvallisuudesta. Etenkin soijan sekä puna-apilan sisältämien isoflavonien käytöstä keskustellaan ajoittain, sillä niiden tiedetään olevan rakenteeltaan samankaltaisia nisäkäsestrogeenin kanssa ja aiheuttavan sekä haluttuja että ei-haluttuja vaikutuksia. Tutkimuksia isoflavonien roolista lisääntymishäiriöissä sekä hormonaalisten syöpien, kuten rinta- ja eturauhassyöpien, kehittämisessä ja etenemisessä on tehty paljon *in vitro* solumalleissa ja koe-eläimissä. Näiden, sekä rajatuilla populaatioilla tehtyjen epidemiologisten, tutkimusten näyttö on kuitenkin erittäin ristiriitaista. Ravintoperäinen isoflavonien saanti ei ole tutkimusnäytön perusteella haitallista, mutta mahdollisten tuntemattomien haitta- ja yhteisvaikutusten vuoksi isoflavoneja sisältävien ravintolisien käytön rajoittaminen ajallisesti tai sairaustiloissa on suositeltavaa. Isoflavonien mahdolliset ja vähäiset sairastuvuutta tai sairauksien etenemistä estävät vaikutukset eivät nykytiedon valossa ole riittäviä, jotta niitä sisältävien ravintolisien käyttöä voisi suositella lääkehoidon lisäksi tai sijaan.

Asiasanat: isoflavonit, ravintolisä, kasvihormonit, syöpä, yhteisvaikutus, turvallisuus, hormonikorvikkeet

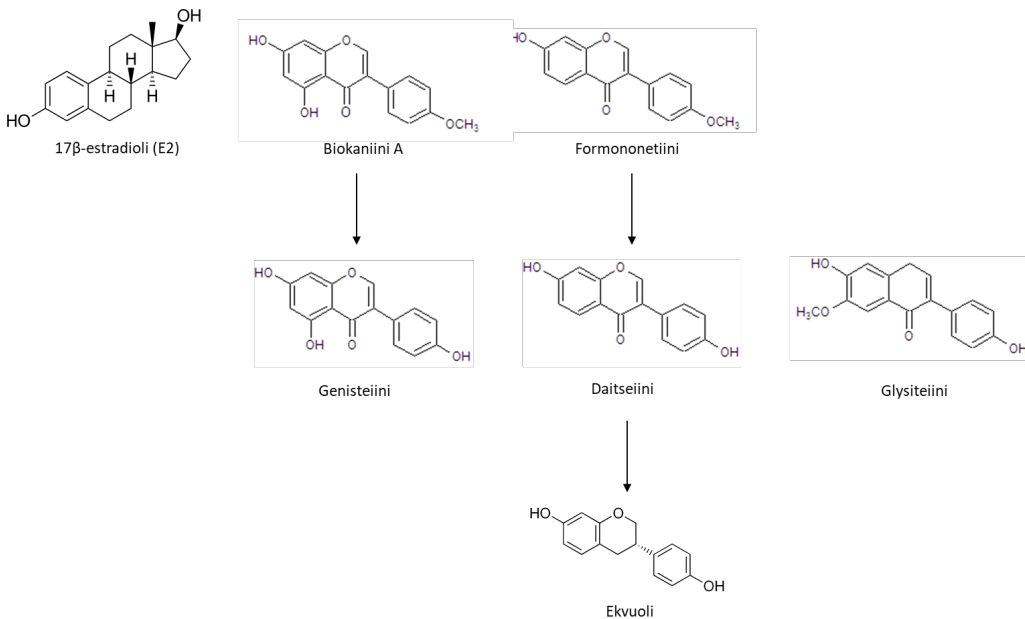
JOHDANTO

Erilaisten ravintolisien ja kasvipäristen tuotteiden käyttö on lisääntynyt länsimaissa viimeisten vuosikymmenten aikana. Näiden tuotteiden ajatellaan paitsi edistävän terveyttä, myös ehkäisevän tai hoitavan sairauksia turvallisemmin kuin synteettisten lääkeaineiden. Erilaisten ravintolisien ja kasvipäristen tuotteiden omatoiminen käyttö ilman terveydenhuollon henkilöstön valvontaa, erityisesti yhtäaikaista lääkkeiden tai sairaustiloissa, voi kuitenkin aiheuttaa merkittäviä haittavaikutuksia tai vaikuttaa lääkehoidon onnistumiseen.

Isoflavonoidit ovat lähinnä hernekasveissa (*Fabaceae*) sekä vähäisemmissä määrin esimerkiksi pähkinöissä ja hedelmissä esiintyviä flavonoidien ryhmään kuuluvia glykosidisia, eli konjugoituneen sokerimolekyylin sisältäviä, ja vesiliukoisia kasvien sekundäärimetaboliitteja, jotka muodostuvat fenyylialaniinista fenyylipropanoidisynteesireitin kautta (Krizova ym. 2019). Esimerkiksi runsaasti isoflavoneja sisältävät soijapapu (*Glycine max* (L.) Merr) ja puna-apila (*Trifolium pratense* L.) kuuluvat maailman tärkeimpiin rehu- kasveihin. Soija on ollut tärkeä peruselintarvike Aasiassa jo vuosituhansien ajan, ja myös länsimaissa soijan käyttö ravintona on yleistynyt merkittävästi 1990-luvun jälkeen. Länsimaissa, erityi-

sesti Yhdysvalloissa, myös maitotuotteet ovat merkittävä isoflavonien lähde. Erityisesti soijan ja puna-apilan sisältämät isoflavonit, genisteiini, daitseiini, biokaniini A ja formononetiini (**Kuva 1**), ovat kiinnostaneet tutkijoita liittyen epidemiologisiin havaintoihin Aasian maiden vähäisemmästä vaihdevuosioireiden, hormonaalisten syöpien sekä sydän- ja verisuonitautien esiintyvyydestä, joiden on uskottu liittyvän länsimaita suurempaan ravintoperäisten isoflavonien saantiin. Isoflavoneja sisältäviä ravintolisiä ja kasvirohdostuotteita markkinoidaan maailmanlaajuisesti lähinnä vaihdevuosioireiden luonnonmukaisempaan ja haitattomampaan hoitoon. Suomen markkinoilla ei tätä katsausta kirjoitettaessa ole lääkkeiksi luokiteltavia isoflavoneja sisältäviä kasvirohdosvalmisteita (Fimea 2019) ja EU:ssa soijaperäisiä isoflavoniuutteita sisältäviä lääkevalmisteita on markkinoilla vain muutamia (EMA 2016). Suomessa markkinoilla on erilaisia ravintolisiä, joiden sisältämät isoflavonit ovat pääosin peräisin soijasta, puna-apilasta, sinimailasesta (*Medicago sativa* L.) ja kudzusta (*Pueraria*). Eniten terveyteen liittyvää tutkimustietoa löytyy soijaperäisistä isoflavoneista, pääosin genisteiinistä ja daitseiinistä.

Parhaiten tutkittu kasviestrogeenin, esimerkiksi isoflavonien ja niiden metaboliittien, biologinen vaikutusmekanismi perustuu rakenteelliseen saman-



Kuva 1. Soijan ja puna-apilan sisältämien merkittävimpien isoflavonien sekä vain elimistössä muodostuvan daitseiinin metaboliitin ekvuolin ja endogeenisen estrogeenin (E2) kemialliset rakenteet.

kaltaisuuteen nisäkäsestrogenien kanssa (**Kuva 1**, Messina ja Messina 2010, Cederroth ym. 2012). Isoflavonien on osoitettu sitoutuvan ihmisen estrogeenireseptoreihin (ER α ja ER β) ja muuttavan reseptorien toimintaa useissa kudoksissa. Isoflavonien molekyytilason vaikutukset ovat aiheuttaneet myös huolta isoflavonien mahdollisista haittavaikutuksista. Isoflavonien on jo 1940-luvulta lähtien havaittu aiheuttavan pysyviä lisääntymishäiriöitä useilla nisäkkäillä, erityisesti lampailla (Krizova ym. 2019). Ihmisessä isoflavoneilla on epäilty olevan osuutta esimerkiksi syövän kehittymiseen tai etenemiseen ja aiheuttavan yleisesti häiriöitä sekä naisten että miesten hormoni-toiminnassa ja sikiön tai syntyneen lapsen kehityksessä. Isoflavonien terveys- ja haittavaikutuksia käsitteleviä tieteellisiä julkaisuja ilmestyy vuosittain jopa satoja, mutta tutkimusnäyttö vaikutuksista on edelleen hyvin ristiriitaista. Syyt tutkimusnäytön ristiriitaisuuteen ovat moninaisia ja liittyvät muun muassa tutkimuksissa käytettyihin valmisteisiin, niiden sisältämiin yhdisteisiin ja isoflavonipitoisuuksiin. Tutkimuksissa on käytetty vaihtelevasti puhdasaineita (mm. genisteiini, daitseiini), soijapitoista ruokavaliota ja useita isoflavoneja sisältäviä uutteita, ja monissa tapauksissa tarkemmat tiedot käytetyistä valmisteista (esim. uutteen) tai niiden koostumuksista puuttuvat. Ristiriitaisuuksia aiheuttavat myös tutkimuspopulaatiot ja tutkimusten kestot. Tutkimuksia ei usein ole suunniteltu arvioimaan esimerkiksi isoflavonien syöpävaikutuksia, tai ne on tehty pelkästään jrsijöillä, mikä heikentää niiden ennustavuutta ja arvoa.

Tässä katsauksessa tarkastelemme Suomessa markkinoilla olevien ravintolisien sisältämien isoflavonien, mahdollisia haitta- ja yhteisvaikutuksia sekä isoflavonien vaikutusten tutkimiseen liittyviä haasteita. Kuvaus käytetyistä isoflavoneista ja valmisteista on mainittu viittauksen yhteydessä. Jos tutkimuksessa ei ole tarkemmin määritelty käytettyä valmistetta, on tekstissä käytetty yleisesti termiä isoflavoni. Jos käytetty isoflavoni on mainittu nimeltä (esim. genisteiini), on kyse puhdasaineesta.

SYÖPÄ

Isoflavonien syöpävaikutuksista on tehty tuhansia tutkimuksia. Isoflavoneilla on osoitettu olevan syövän kehittymistä tai etenemistä estäviä vaikutuksia; ne voivat muun muassa estää solunjakautumista ja indusoida apoptoosia muokkaamalla solusyklin säätelyproteiinien ilmentymistä sekä osallistua solujen erilaistumiseen inhiboimalla solujen kasvutekijöitä (Mahmoud ym. 2014). Isoflavonien on lisäksi osoi-

tettu inhiboivan angiogeneesiä ja estävän etäpesäkkeiden syntymistä. Kuitenkin myös päinvastaisia vaikutuksia, esimerkiksi metastasoinnin lisääntymistä ja apoptoosin vähenemistä on osoitettu hiirimalleissa, joihin on istutettu ihmisen eturauhassyöpäsoluja (Nakamura ym. 2011). *In vitro* ihmisen napalaskimon endoteelisolujen 3D angiogeneesimallissa genisteiinillä todettiin olevan sekä anti-angiogeenisiä että pro-angiogeenisiä vaikutuksia (Berndt ym. 2018).

In vitro kokeissa on myös osoitettu, että eri isoflavoneilla tai niiden yhdistelmillä on erilaisia solutason vaikutuksia. Näin ollen on todennäköistä, että usealle isoflavonille altistuminen, esimerkiksi syömällä soijaa sisältäviä ruokia, voi vaikuttaa eri tavoin kuin yksittäiselle isoflavonille altistuminen.

Rintasyöpä. Johtuen rintarauhasen monivaiheisesta kehittymisprosessista, rintakudoksella on erilaisia herkkyyskausia estrogeenille (Hilakivi-Clarke ym. 2006). Eläinkokeista ja meta-analyseistä on saatu viitteitä siitä, että puberteetin aikainen altistuminen genisteiinille muokkasi rintarauhasen morfologiaa estäen rintasyövän syntyä, kun taas postmenopausaalinen altistuminen mahdollisesti lisäisi rintasyöpäriskiä (Andres ym. 2011, Hüser ym. 2018). Tämän lisäksi kantavilla rotilla tehdyissä tutkimuksissa emojen genisteiinille altistuminen lisäsi rintarauhasen syövän riskiä naaraspuoleisilla jälkeläisillä (Hilakivi-Clarke ym. 1999a), kun taas esi-pubertaalinen altistuminen vähensi riskiä (Hilakivi-Clarke ym. 1999b). Riskin vähenemistä on selitetty muun muassa terminaalisen päätesilmujen (terminal end bud, TEB) määrän vähenemisellä, solujen jakautumisen vähenemisellä, TEB:n lisääntyneellä erilaistumisella ja apoptoosilla (Hilakivi-Clarke ym. 2006) sekä geeniekspresion muutoksilla (mm. BRCA1:n säätely, Cabanes ym. 2004). Sen sijaan rotilla tehtyjen *in vivo* karsinogeenisuuskokeiden tulokset (NTP, 2008) ovat olleet ristiriitaisia, eikä isoflavonien karsinogeenisyyttä voida arvioida niiden perusteella.

Vuonna 2010 tehdyssä meta-analyysissä isoflavoneja sisältävät ruoat tai ravintolisät eivät vaikuttaneet rintarauhasen tiheyteen, mikä on yksi ei-standardoitu rintasyövän markkeri (Hüser ym. 2018). Uusimmissa tutkimuksissa isoflavoniuutteella (*isoflavone extract*), standardoidulla soijauutteella (*standardised soy extract*), tai genisteiiniä ja daitseiiniä sisältävällä isoflavoniseoksella ei myöskään nähty vaikutusta pre- ja postmenopausaalisten naisten rinnan tiheyteen (Hüser ym. 2018). Myös premenopausaalisilla naisilla tehdyt tutkimukset isoflavonien vai-

kutuksista rintasolujen jakautumisaktiivisuuteen olivat ristiriitaisia. Vuonna 1998 julkaistu tutkimus (McMichael-Phillips ym. 1998) osoitti, että isoflavoneja sisältävä ravintolisä lisäisi solujen jakaantumista, mutta tätä tutkimustulosta ei pysytty toistamaan jatkotutkimuksessa (Hargreaves ym. 1999). Myöskään 2000-luvulla tehdyissä tutkimuksissa soijaperäiset isoflavonit (*mixed soy isoflavones*) eivät lisänneet solujen jakautumista.

Kohtu- ja munasarjasyöpä. Kuten rintasyövän kohdalla, myös kohtusyövän kohdalla tulokset ovat ristiriitaisia (Andres ym. 2011). *In vitro* solukokeista ja osittain myös eläinkokeissa saadut tulokset viittaisivat siihen, että isoflavonit lisäävät kohtusyövän riskiä. On myös osoitettu, että kantavana olevien hiirien altistaminen genisteiinille lisäsi myöhemmin poikasten kohdun adenokarsinoomaa (Newbold ym. 2001). Kuitenkin kokeellisesti on myös huomattu, että samanaikainen, korkea estradiolivaikutus voidaan antagonisoida genisteiinillä vähentäen muun muassa solujen jakautumista (Diel ym. 2006). Genisteiini ja daitseiini estävät estrogeeni-indisoitua kohtusyöpää hiirissä estämällä estrogeeniin liittyvien geenien ja sytokiiniin ilmentymistä (Lian ym. 2001). On kuitenkin vähän näyttöä sen puolesta, että normaalista ruokavaliosta saatava isoflavoniannos ja alle vuoden mittainen isoflavoneja sisältävien ravintolisien käyttö lisäisi kohtusyöpää post-menopausaalisilla naisilla. Luotettavien tulosten saamiseksi tutkimuksissa olisi käytettävä vuosien mittaista altistusaikaa. Pre-menopausaalisilla naisilla, joilla estrogeenitasot ovat korkeampia, isoflavonit saattaisivat suojata kohtusyövältä.

Epidemiologisten tutkimusten perusteella ravintoperäiset isoflavonit näyttäisivät suojaavan munasarjasyövältä aasialaisilla mutta myös amerikkalaisilla naisilla (Andres ym. 2011). Epidemiologisten tutkimusten meta-analyysi osoitti myös, että soijan käyttö alensi munasarjasyövän riskiä 48 prosenttia (Myung ym. 2009). Eläinkokeissa puolestaan tulokset olivat vastakkaisia; geneettisesti syöväälle alttiit hiiret muodostivat suuria määriä spontaaneja munasarjan granuloosisolujen tuumoreita genisteiini ja daitseiini -altistuksen jälkeen (Dorward ym. 2007). Porsaille, joille syötettiin isoflavoneilla rikastettua ruokaa (*S800 isoflavone-enriched diet*, 2.8mg/kg body weight/day), kehittyi raskaammat munasarjat, joissa oli enemmän munarakkuloita (De Wilde ym. 2007). Kuten kohtusyövän kohdalla, munasarjasyövän kohdalla ei pystytty sanomaan, onko isoflavoneilla syövältä suojaava vai syöpää aiheuttava vaikutusta.

Eturauhassyöpä. *In vitro* kokeiden tulokset ihmisen eturauhassyöpäsoluissa ovat osoittaneet, että genisteiini voi vähentää prostaglandiiniin synteesiä estäen näin syövän synnyssä oleellista tulehdusreaktiota (PDQ 2019). Genisteiini ja daitseiini estävät angiogeneesissä tarvittavien kasvutekijöiden ja syövän etenemiseen tarvittavan IL-8 geenin ilmentymistä eturauhassyöpäsoluissa (Rabiau ym. 2010). Tämän lisäksi niiden on havaittu estävän eturauhassyöpäsolujen (LnCaP ja PC3) jakautumista (Ajdžanović ym. 2013). Hiirissä, joihin oli istutettu ihmisen eturauhassyöpäsoluja, nähtiin että genisteiinilla olisi metastasointia estävä vaikutus, vaikka se ei vaikuttanutkaan kasvaimen kokoon. Tämän lisäksi genisteiini estää eturauhassyövän metastasointia vaikuttamalla syöpäsolujen irtoamiseen (Lakshman ym. 2008, PDQ 2019). Transgeenisillä eturauhassyövän koe-eläimillä (hiiri) tehdyissä tutkimuksissa genisteiini alensi solujakautumiseen liittyvien proteiinien määrää, sekä kasvutekijöiden reseptoreiden määrää viitaten syöpää estävään vaikutukseen (Wang ym. 2004). Näissä hiirimalleissa havaittiin myös, että matalammalla genisteiiniannoksella (250 mg/kg rehua) on metastasoiva vaikutus, kun taas korkealla genisteiiniannoksella (1000 mg/kg rehua) on metastasointia estävä vaikutus (El Touny ja Banerjee, 2009). Genisteiinin syönnin ajoituksella sekä annoksella voi siis olla merkitystä eturauhassyövän etenemiseen. Myös täysin päinvastaisia tuloksia on havaittu hiirimalleissa, joihin on istutettu ihmisen eturauhassyöpäsoluja (Nakamura ym. 2011). Näillä hiirillä esiintyi enemmän metastaseja sekundaarisissa kudoksissa sekä syöpäsolujen vähentynyttä apoptoosia. Tämä voi tarkoittaa sitä, että genisteiini lisää metastasointia eläimillä, joilla on pitkälle edennyt eturauhassyöpä.

Vuonna 2018 tehty meta-analyysi osoitti, että runsas ei-fermentoitujen soijatuotteiden (esim. tofu ja soijamaito) käyttö voi alentaa eturauhassyövän riskiä miehillä. Tätä yhteyttä eturauhassyövän riskiin ei havaittu fermentoitujen eli hapatettujen soijatuotteiden (esim. miso ja natto) syönnillä, eikä kokonaisisoflavonien saannilla ja verenkierrosta mitattujen isoflavonien pitoisuuksilla (Applegate ym. 2018). Vuonna 2014 tehdyssä meta-analysissä (van Die ym. 2014) ei havaittu eroja muun muassa PSA- (prostataspesfinen antigeeni), SHBG- (*sex hormone binding globulin*), testosteroni- ja estradiolitasoissa kontrolli- ja isoflavoniryhmissä viitaten siihen, että isoflavoneilla ei olisi vaikutusta eturauhassyövän syntyyn. Erilaisten isoflavonivalmisteiden (*purified isoflavones, isoflavone extracts, soy isoflavones*) vaikutuksia PSA-tasoihin

on selvitetty useammassa tutkimuksessa, ja niiden mukaan isoflavonit voivat alentaa PSA-tasoa (PDQ, 2018). Vaikka kirjallisuudesta löytyy tutkimuksia, joiden mukaan isoflavoneilla ei ole minkäänlaista vaikutusta eturauhassyöpään, löytyy määrällisesti enemmän tuloksia sen puolesta, että ne suojaavat miehiä eturauhassyövältä.

LISÄÄNTYMISTERVEYS

Kasviestrogeeneja sisältävien nurmipalkokasvien, kuten apiloiden ja sinimailasen, sekä soijapohjaisen rehun, on havaittu aiheuttavan tilapäistä tai jopa pysyvää hedelmättömyyttä kasveja syövässä ja rehulla ruokituissa märehitöissä ("clover disease") ja soija-proteiinilla (*soy-based diet*) ruokituissa gepardeissa, joskaan myöhemmissä tutkimuksissa tuloksia ei ole pystytty täysin toistamaan (Krizova ym. 2019). Jyrsijöillä tehdyissä kokeissa vaikutukset sekä urosten että naaraiden hedelmällisyyteen ovat myös olleet huomattavasti dramaattisempia kuin ihmisillä havaitut mahdolliset haitalliset vaikutukset (Cederroth 2012). Isoflavonien on esitetty vaikuttavan miesten hedelmällisyyttä heikentävästi laskemalla testosteronitasoja ja huonontamalla siemennesteen laatua (Chavarro ym. 2008). Vaikka solutason muutoksia Sertolin ja Leydigin soluissa on havaittu myös kädellisissä, tutkimuksissa ja meta-analyyseissa ei kuitenkaan ole havaittu isoflavonien käytön vaikuttavan miesten hormonitasoihin, hedelmällisyyteen tai hedelmöityshoittojen lopputulokseen (Messina 2010, Messina 2016). Naisilla osa tutkimuksista on osoittanut isoflavonien käytön olevan edullista hedelmällisyshoittojen onnistumiselle (Vanegas ym. 2015), kun taas osassa tutkimuksista on havaittu isoflavonien saannin johtavan pre-menopausaalisten naisen luteinisoivan ja follikkelia stimuloivan hormonin matalampiin pitoisuuksiin, pidempiin kuukautiskiertoihin ja heikompaan hedelmällisyyteen (Hooper ym. 2009).

Isoflavoneja sisältävien ravintolisien raskauden aikaisesta käytöstä ihmisillä on tehty melko vähän tutkimuksia. Prekliinisten tutkimusten mukaan isoflavonit läpäisevät istukan, niitä löytyy mitattavia pitoisuuksia myös lapsivedestä ja pitoisuudet riippuvat suoraan äidin nauttimasta määrästä isoflavoneja (Jarrell ym. 2012). Korkeidenkaan äidin seerumin tai lapsiveden isoflavonipitoisuuksien ei kuitenkaan ole havaittu korreloivan raskauskomplikaatioiden kanssa. Tutkimuksia varhaisen isoflavoniantistuksen pitkäaikaisvaikutuksista löytyy erittäin vähän. Soijaproteiinipohjaisia äidinmaidonkorvikkeita on käytetty maailmanlaajuisesti noin 20–25 prosentilla alle yk-

sivuotiaista jo yli 40 vuotta ilman merkittäviä haittavaikutuksia (Badger ym. 2009). Korvikkeilla ruokituilta lapsilta on kuitenkin mitattu jopa 200-kertaisia isoflavonien pitoisuuksia plasmassa verrattuna rintaruokittuihin tai muilla teollisilla äidinmaidonkorvikkeilla ruokittuihin lapsiin tai jopa 20 000-kertaisia pitoisuuksia verrattuna E2-pitoisuuksiin (Cederroth ym. 2012). Tutkimuksissa on lisäksi havaittu ennen aikaista rintojen kasvua ja emättimen limakalvon suurempia estrogeenipitoisuuksia verrattuna rintaruokittuihin tai lehmänmaidon pohjaista korviketta käyttäviin lapsiin (Bernbaum ym. 2008). Pitkäaikaisissa tutkimuksissa on havaittu soijaproteiinipohjaisia korvikkeita käyttäneillä tytöillä myös kohdun hyvinlaatuisia kasvaimia, varhain alkaneita kuukautisia sekä pidempiä kuukautiskiertoja, mutta näiden havaintojen syy-seuraussuhteet ja merkitys ovat epäselviä (Cederroth ym. 2012). Ympäristön kemikaalien yleisesti on osoitettu aiheuttavan epigeneettisiä muutoksia sikiössä, mutta isoflavoneilla tällaisia tutkimuksia ei ole tehty.

YHTEISVAIKUTUKSET

Ravintoperäisen soijan sekä isoflavoneja sisältävien ravintolisien käytön yhteydessä on kuvattu muutamia haitallisia yhteisvaikutuksia lääkkeiden kanssa (**Taulukko 1**). Havaittujen yhteisvaikutusten taustalla olevia mekanismeja ei tunneta tarkasti, tai *in vitro* havaittujen yhteisvaikutusten kliininen merkitys on epäselvä. Isoflavonit aiheuttavat muutoksia lääkeaineita metaboloivien sytokromi P450 (CYP) entsyymien sekä kuljetinproteiinien ilmentymisessä ja toiminnassa. Genisteiiniin ja daitseiiniin on havaittu sekä indusoivan (CYP3A, CYP4) että inhivoivan (CYP1A) CYP-entsyymejä *in vitro* (Ronis 2016, Zhou ym. 2019). Jyrsijöillä tehdyissä kokeissa genisteiini ja daitseiini sekä inhivoivat että indusoivat CYP1A-entsyymiperheen jäseniä. Ekvuoli puolestaan on ihmisen pregnaani X reseptorin agonisti, ja indusoi CYP2C9 ja 3A4-entsyymejä. Genisteiini ja daitseiini inhivoivat myös faasi II sulfo- ja UDP-glukuronyylitransferaaseja jyrsijöissä ja näin ollen vähentävät estrogeenisten yhdisteiden metaboliaa. Genisteiiniin ja daitseiiniin on myös havaittu inhivoivan effluksikuljettajaproteiineja (BCRP, OATP, Pgp ja MRP:t) solumalleissa, millä saattaa olla vaikutusta lääkeaineiden kulkeutumiseen elimistön kalvojen läpi.

ISOFLAVONITUTKIMUKSEN HAASTEITA

Tutkimuksissa havaittujen, vaikka heikkojenkin, positiivisten vaikutusten vuoksi isoflavonitutkimus jat-

Taulukko 1. Isoflavonien ja lääkkeiden/ravintolisien välisiä mahdollisia yhteisvaikutuksia

Lääkeaineryhmä/ Ravintolisä	Interaktiomekanismi ja vaikutus
Antikoagulantit Verihiutaleiden estäjät Tulehduskipulääkkeet	Runsaan soijamaidon käytön on havaittu vaikuttavan INR-arvoihin ja lääkityksen tehoon yhdellä varfariinihoitoisella potilaalla (Cambria-Kiely 2002). Isoflavonivälitteistä mekanismia ei ole osoitettu, mutta joko isoflavonien tai soijaproteiinin arvellaan muuttaneen varfariinin imeytymistä ja metaboliaa. Fermentoidun soijan (natto) on osoitettu lisäävän plasman K2-vitamiinipitoisuuksia, mikä voi vähentää varfariinihoidon tehoa (Homma ym. 2006). Isoflavonien on myös osoitettu vähentävän verihiutaleiden tromboksaani A2 reseptorien tiheyttä, mikä voi lisätä tulehduskipulääkkeiden tai verihiiutaleiden estäjien veren hyytymistä vähentävää vaikutusta (Garrido ym. 2006).
SERM-lääkkeet	Ravintolisäperäiset isoflavonit ja isoflavonoidit vähentävät tamoksifeenin tehoa <i>in vitro</i> ja <i>in vivo</i> jyrksijöissä (Johnson ym. 2016). Kliinisissä tutkimuksissa negatiivista yhteisvaikutusta ei ole havaittu. Isoflavoneilla on osoitettu olevan vähäistä CYP2D6-entsyymin inhibiitopotentiaalia, mikä voisi selittää tamoksifeenin tehon alenemisen.
Aromataasi-inhibiittorit	<i>In vitro</i> tutkimuksissa on havaittu genesteiin vähentävän letrotsolin tehoa riippuen genesteiin pitoisuudesta sekä ER α /ER β -ilmentymisen suhteesta syöpäsoluissa (Pons ym. 2016).
Melatoniini	Kliinisessä tutkimuksessa, jossa selvitettiin soijaperäisten isoflavonien ja melatoniinin vaikutuksia vaihdevuosioireisiin, yhdelle potilaista kehittyi mm. takykardiaa, unettomuutta ja päänsärkyä (Balk ym. 2005). Havaitut vaikutukset voivat olla seurausta isoflavonien aiheuttamasta CYP1A2 inhibitiosta, jolloin melatoniinin metabolia hidastuu ja melatoniinin yksilölliset haittavaikutukset voivat korostua.

kunee vilkkaana, erityisesti ekvuolin ja vielä tuntemattomien metaboliittien osalta. Isoflavonien vaikutusten tutkimista vaikeuttavat esimerkiksi molekyyllitason vaikutusmekanismien puutteellinen tunteminen sekä *in vitro* menetelmien ja eläinkokeiden huono ennustavuus. Eläinmallien huono ennustavuus ei liity niinkään eroihin ER:n rakenteessa, ligandi- tai kudospesifisyydessä, vaan suurimmaksi osaksi isoflavonien merkittävästi erilaiseen metaboliaan eri lajien välillä sekä erilaisista annostelutavoista. Epidemiologiset tutkimukset puolestaan kärsivät tutkimusasetelmien rajallisuudesta ja tuloksiin vaikuttavien tekijöiden puutteellisesta hallinnasta. Käytännössä tutkimukset ovat keskittyneet pääasiassa iäkkäisiin tai aasialaisiin väestöryhmiin, mikä voi osaltaan vaikuttaa tutkimuksista saatuihin hyvin ristiriitaisiin tuloksiin. Yksi merkittävimmistä haasteis-

ta on myös isoflavonien vaihteleva ja merkittävästi yksilöstä riippuva metabolia ja imeytyminen, mikä aiheuttaa huomattavia eroja yksilöiden isoflavonipitoisuuksissa ja isoflavonien pitoisuuksissa seerumissa – käytännössä siis myös isoflavonien biologisessa aktiivisuudessa. Pitkäkestoisia, huolellisesti suunniteltuja ja kontrolloituja tutkimuksia tarvitaan lisää, jotta isoflavonien vaikutuksista voidaan tehdä luotettavia johtopäätöksiä (**Taulukko 2**).

Farmakokinetiikka ja biologinen hyötyosuus. Palkokasveissa yli 80 prosenttia isoflavoneista esiintyy huonosti imeytyvinä glykosideina (soija) tai metyloituneina muotoina (puna-apila) (Messina ja Messina 2010 Krizova ym. 2019). Ihmisillä pääasialliset ravintoperäiset isoflavonien lähteet ovat soijapapu ja erilaiset soijapavusta valmistetut ruoka-aineet

Taulukko 2. Isoflavoneilla tehtyjen tutkimusten tuloksiin vaikuttavia (epävarmuus)tekijöitä.

Tutkimukselliset tekijät	Erot tutkittavissa	Isoflavoneja sisältävät valmisteet
Ei-fysiologiset annokset ja (lyhyet) altistusajat	ER α /ER β suhde kudoksissa, yksilöiden väliset erot	Valmistusprosessin vaikutus isoflavonien pitoisuuksien suhteisiin lopputuotteessa
Tutkimukset yksittäisillä yhdisteillä vs. todellinen altistuminen yhtäaikaisesti usealle isoflavonille ym. yhdisteille (esim. uutteet)	ER β polymorfiat/isoformit	Valmisteen sisältämät muut vaikuttavat (mahdollisesti tuntemattomat) aineet
<i>In vitro</i> tulosten ja kliinisen vasteen vertailtavuus	Erot isoflavonien metaboliassa (geneettiset, ravitsemukselliset)	Altistuminen erilaisille isoflavonipitoisuuksille (valmisteet, ravinto)
Lajien väliset erot ER α /ER β -suhteissa ja isoflavonien metaboliassa	Soijan käytön aikaikkuna (lapsuus-nuoruus vs. aikuisikä)	
Erilaiset tutkimuskokoonpanot (epidemiologiset tutkimukset)	Sukupuoli, etninen tausta	

(tofu, teksturoitu soija) sekä ravintolisien soija- tai puna-apilaperäiset uutteet. Imeytymistutkimuksissa on havaittu sekä isoflavonien (puhdasaineet) että niiden tunnettujen metaboliittien imeytyvän pääosin passiivisesti ohutsuoletta. Genisteiinin ja daitseinin metaboliittien imeytyminen on noin kaksi kertaa tehokkaampaa kuin kantayhdisteiden, huolimatta niiden samanlaisista fysikokemiallisista ominaisuuksista. Isoflavonien ja niiden metaboliittien suhteellinen imeytyminen ja jakautuminen on hyvin monimutkaista eivätkä havaitut erot ole selitettävissä esimerkiksi yhdisteiden erilaisilla liukoisuusominaisuuksilla. Metaboliittien tehokkaampaa imeytymistä on selitetty muun muassa erilaisella rakenteellisella joustavuudella sekä kantayhdisteiden suuremmalla sitoutumisaffiniteetilla suoliston kuljetinproteiineihin. Isoflavonien maksimipitoisuus seerumissa saavutetaan noin 4–10 tunnin kuluttua ravintoperäisen soijan tai isoflavoneja sisältävien ravintolisien nauttimisen jälkeen. Isoflavonien metabolia tapahtuu pääosin ohutsuolessa, jossa suolistobakteerien entsyymit katalysoivat sokeri- tai metyylyryhmän irtoamista ja

edelleen muita metaboliareaktioita, pääasiassa glukuronidaatiota (Krizova ym. 2019). Osa metaboliasta tapahtuu imeytymisen jälkeen myös maksassa pääosin faasi II reaktioiden kautta (glukuronikonjugatio, sulfaatio) sekä vähäisessä määrin CYP1A2-entsyymivälitteisesti. Maksan tuottamat metaboliitit kulkevat sapen kautta takaisin ohutsuoletta, josta ne, yhdessä imeytymättömien isoflavonien kanssa, päätyvät paksusuoleen. Paksusuolen mikrobit metaboloivat yhdisteitä edelleen, ja osa metaboliatuotteista päätyy enterohepaattisen kierron seurauksena uudelleen systeemiverenkiertoon. Todennäköisesti kuitenkin vain hyvin pieni osa isoflavonien metaboliareaktioista ja syntyvistä metaboliiteista tunnetaan tällä hetkellä. Suoliston bakteerifloora vaikuttaa merkittävästi erilaisten metaboliatuotteiden syntymiseen, ja isoflavonien metabolia eroaakin huomattavasti eri lajien ja yksilöiden välillä, mutta isoflavonien metabolian kannalta merkittäviä bakteerikantoja ei tunneta. Esimerkiksi märehittäjöissä ekvuolin muodostuminen on yleistä, mutta tutkimusten mukaan 40–70 prosentilla ihmisistä ekvuolia ei havaita virtsassa soi-

jatuotteiden tai isoflavonien (puhdasaine) nauttimisen jälkeen. Metaboliaan voivat vaikuttaa lisäksi esimerkiksi metaboloivien entsyymien geneettiset polymorfiat, antibioottien käyttö ja ruoansulatuskanavan läpikulkuaika. Samoin erityisesti soijapapujen tai niistä valmistettujen ruoka-aineiden käsittelyn, kuten fermentoinnin tai keittämisen, on havaittu muuttavan isoflavonien kemialla ja vastaavasti esimerkiksi soijapapujen tai puna-apilan kuivaaminen korkeissa lämpötiloissa vähentää isoflavonien aglykonimuotojen pitoisuuksia lopputuotteessa.

Estrogeenireseptorien ilmentyminen ja polymorfia. Estrogeenireseptoreita (ER α ja ER β) ilmennetään lähes kaikissa elimistön kudoksissa, esimerkiksi rinta- ja eturauhasessa, sydämessä, verisuonissa, munuaisissa, paksusuolella ja immuunijärjestelmässä (Lecomte ym. 2017). Reseptorityyppien ilmentyminen on kudoksiin riippuvaista, minkä lisäksi niiden osuudet voivat vaihdella myös kudoksen sisällä riippuen esimerkiksi kehitys- tai kuukautiskierron vaiheesta tai sairauksista. Tutkimuksissa on havaittu isoflavonien ja niiden metaboliittien kertyvän kudoksiin hyvin vaihtelevasti, mutta tutkimuksia on tehty hyvin vähän ihmisillä, ja ne ovat keskittyneet lähinnä rintasyöpäkudoksen isoflavonipitoisuuksien arviointiin. Tutkimuksissa on kuitenkin selvinnyt, että seerumin isoflavonipitoisuudet eivät korreloi esimerkiksi rintakudoksen pitoisuuksien tai kudoksessa esiintyvien metaboliittien kanssa. Reseptorien polymorfiat voivat vaikuttaa niiden aktiivisuuteen ja lisätä tai vähentää isoflavonien estrogeenista vaikutusta (Figtree ym. 2009). Polymorfioita on havaittu erityisesti tiettyjen sairauksien tai tilojen, kuten rintasyövän, sydän- ja verisuonitautien, osteoporoosin ja keskenmenojen, yhteydessä. Polymorfisten geenien vaikutukset tunnetaan kuitenkin huonosti, eikä niiden yhteydestä isoflavonien mahdollisiin (haitta)vaikutuksiin ole tehty tarkkoja tutkimuksia.

Biologinen aktiivisuus ja affiniteetti. Isoflavonien biologinen aktiivisuus on keskimäärin sata tai jopa tuhat kertaa heikompi verrattuna endogeeniseen 17 β -estradioliin (E2), minkä lisäksi isoflavonien metaboliittien estrogeenisessa aktiivisuudessa on eroja (Messina ja Messina 2010, Krizova ym. 2019). Tällä hetkellä tunnetuista metaboliiteista biologisesti aktiivisin on daitseiinin metaboliitti ekvuoli. Arvio isoflavonien ja niiden metaboliittien heikosta biologisesta aktiivisuudesta liittyy kuitenkin käytännössä vain ER α -affiniteettiin. Toisin kuin E2, isoflavonit sitoutuvat yleisesti ottaen 3–300 kertaa voimakkaammin

ER β -reseptoriin kuin ER α -reseptoriin, mutta sitoutumisessa on jonkin verran eroja myös isoflavonien ja metaboliittien välillä (Kostelac ym. 2003). Esimerkiksi ekvuolin ER-affiniteetti on lähes yhtä suurta (n. 8-kertainen ero) kumpaankin reseptorin alatyyppiin, kun taas genisteiinin ja daitseiinin affiniteetti ER β :in on 500–800 voimakkaampaa kuin ER α :in. Isoflavonien reseptoriin sitoutuminen on konformaatiosta riippuvaa, eli ne ovat selektiivisen estrogeenireseptori-modulaattorien (SERM), eivätkä niinkään endogeenisten estrogeenien, kaltaisia yhdisteitä. Isoflavonit voivat siis toimia sekä estrogeenisina (agonistinen vaikutus) että antiestrogeenisina (antagonistinen vaikutus) yhdisteinä, riippuen isoflavonista, kudoksen endogeenisen estrogeenin pitoisuuksista sekä kyseisessä kudoksessa ilmentyvistä estrogeenireseptorin tyypistä. Glukuroitujen isoflavonien biologisen aktiivisuuden on osoitettu olevan isoflavonien aglykonin tai metyloimattomia muotoa matalampaa, mutta glukuronidaation on myös osoitettu lisäävän affiniteettia ER α -reseptoriin E2:n tapaan (Beekmann ym. 2015). Uusimmissa tutkimuksissa on myös havaittu, että mahdollisen rintasyövän etenemiseen liittyvän negatiivisen vaikutuksen taustalla eivät olisikaan isoflavonien aglykonimuodot, vaan soijapapun sekä monien ravintolisien sisältämät glykoloituneet muodot, joiden on aiemmin ajateltu olevan biologisesti melko inaktiivisia, osin todennäköisesti niiden huonon imeytymisen vuoksi (Johnson ym. 2016).

Ei-hormonaaliset vaikutusmekanismit. Isoflavoneilla on myös ER:in sitoutumisesta riippumattomia vaikutusmekanismeja, mutta niiden merkitystä ei tunneta tarkasti. *In vitro* tutkimuksissa isoflavonien on havaittu inhiboivan androgeeneja estrogeeneiksi irreversiibelisti muuntavaa aromataasientsyymiä ja sitoutuvan 5 α -dihydro-testosteroniin (antiandrogeeninen vaikutus) (Kalaiselvan 2010). Lisäksi ainakin genisteiinillä on merkittävää vaikutusta epigeneettisiin geenien ilmentymisen säätelymekanismeihin; genisteiinin on havaittu vähentävän DNA:n metylylaatiota syöpään liittyvien geenien, kuten Wingless-int geenin, promoottorialueilla ja uudelleenaktivoivan ER α :n ER-negatiivisissa rintasyöpäsolulinjoissa (Lecomte ym. 2017). Isoflavonit ovat myös voimakkaita antioksidantteja ja muokkaavat eikosanoidi-aineen vaihduntaa (Kalaiselvan ym. 2010).

Isoflavonivalmisteiden sisältämät yhdisteet. Isoflavoneita sisältävien kasvien, esimerkiksi soijapapun ja puna-apilan, isoflavoniprofiilit eli isoflavonien ko-

konaismäärä ja eri isoflavonien suhteelliset osuudet eroavat toisistaan luonnostaan, minkä lisäksi isoflavonien pitoisuudet yksittäisen kasvin eri osissa voivat vaihdella suuresti. Lisäksi esimerkiksi kasvuvaiheen, kuivuuden, viileän ilmastin, lannoitteiden ja UV-säteilyn määrän on havaittu vaikuttavan kasvien isoflavonipitoisuuksiin jopa kymmenkertaisesti (Krizova et al. 2019). Lisäksi isoflavonien pitoisuudet vaihtelevat merkittävästi raaka-aineen käsittelymenetelmien seurauksena. Ihmisen syöpäsoluja sisältävissä ksenograaftimalleissa on havaittu pitkälle prosessoitujen isoflavonivalmisteiden (esim. ravintolisät) tai puhdasaineiden lisäävän syöpäsolujen kasvua merkittävästi enemmän kuin ravintoperäisten (esim. soijajauho) isoflavonien (Allred ym. 2004 Andres ym. 2011). Ravintolisien tuoteselosteisiin on yleensä merkitty niiden sisältämien isoflavoniyhdisteiden kokonaisuusmäärä (esim. ”sisältää soijaisoflavoneja 50 mg”), mutta eri isoflavonien tai niiden metaboliittien jakaumaa ei ole ilmoitettu. Esimerkiksi aglykonimuotojen ja glykosidien erottelu on oleellista, koska aglykonin massa on noin 60 prosenttia glykosidin massasta, eli käytännössä mainittu 50 mg isoflavoneja voi sisältää 30–50 mg biologisesti aktiivisia isoflavoneja valmisteesta riippuen. Sekä soija että puna-apila sisältävät isoflavonien lisäksi runsaasti muita bioaktiivisia yhdisteitä, kuten kumariineja, joita voi päätyä isoflavoneja sisältäviin ravintolisiin ja jotka voivat aiheuttaa muutoksia lääkeainemetaboliassa.

Isoflavoneja sisältävien ravintolisien käyttöikä ja käytettävät pitoisuudet. Isoflavoneja sisältävien ravintolisien tyypillinen käyttäjä on vaihdevuosi-ikää lähestyvä tai vaihdevuosisoireista kärsivä nainen, joka haluaa ehkäistä tai hoitaa oireita luonnonmukaisemmin tai ei voi käyttää synteettisiä valmisteita. Valmisteita käytetään pienimuotoisesti myös parantamaan hedelmällisyyttä sekä hoidettaessa kuumautisia edeltäviä oireita, erityisesti Yhdysvalloissa. Yleisesti ravintolisien käyttöohjeissa suositellun isoflavonien sadan tai kahdensadan milligramman vuorokausiannoksen käyttö noin puolen vuoden ajan on tutkimuksissa havaittu olevan hyvin siedettyä (Krizova ym. 2019), mutta vaihdevuosisoireissa tai lapsettomuuden hoidossa valmisteiden käyttö voi jatkua huomattavasti tätä pidempään. Verrattuna aasialaisten tai muuten runsaasti soijatuotteita käyttävien henkilöiden ravintoperäiseen isoflavonien saantiin, nämä annokset ovat noin 2–4 kertaa suurempia. Toisaalta sadan milligramman isoflavoniannoksen on osoitettu nostavan isoflavonien pitoisuuksia

plasmassa jopa yli neljä mikromolaarisiksi, mikä on noin kymmenkertainen pitoisuus verrattuna keskimääriin, runsaasti soijaa käyttäviltä japanilaisilta mitattuihin pitoisuuksiin (Cederroth ym. 2012). Isoflavoneja sisältävien ravintolisien aiheuttamia muutoksia isoflavonien pitoisuuksiin plasmassa, ja näin ollen niiden biologisissa vaikutuksissa, on kuitenkin erittäin vaikea ennustaa samalla isoflavoniannoksella saavutettujen plasman isoflavonipitoisuuksien suuren yksilöiden välisen vaihtelun vuoksi. Erilaisen hormonihäiriköiden vaikutuksia arvioidaan tyypillisesti ainekohtaisesti, mutta käytännössä ihmiset altistuvat päivittäin suurelle määrälle erilaisia haitallisia yhdisteitä, joilla voi olla myös synergistisiä vaikutuksia. Isoflavonien haittavaikutustutkimukset on yleensä tehty yksittäisillä yhdisteillä ja hyvin suurilla pitoisuuksilla (jopa 450 mg genisteiiniä ja 300 mg daiteiiniä, Messina ja Messina 2010), joten voi olla mahdollista, että isoflavonit voivat aiheuttaa toistaiseksi tuntemattomia haittavaikutuksia pitkään jatkuneessa käytössä ja yhdessä muiden hormonihäiriköiden kanssa.

YHTEENVETO

Erilaisten vaihtoehto- ja täydentävien hoitojen suosio kasvaa jatkuvasti ihmisten olettaessa virheellisesti niiden olevan luonnollisempia ja turvallisempia kuin varsinaiset lääkehoidot. Isoflavoneilla on useita ominaisuuksia, joilla voi olla vaikutusta sairastuvuuteen sekä sairauksien etenemiseen, mutta nykytiedon valossa niille ei ole näyttöön perustuvia käyttöaiheita minkään sairauden hoidossa tai ehkäisyssä, eikä niiden käyttöä voi missään tilanteessa suositella korvaamaan tarpeellista lääkehoitoa. Euroopan elintarviketurvallisuusviranomaisen (EFSA) on linjannut, että soijaperäisten isoflavonien vaikutuksista luun tiheyteen tai vaihdevuosisoireisiin ei ole riittävää näyttöä (EFSA 2012a,b). Myös Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkintävirasto (FDA) on äskettäin kumonnut aiemman lausuntonsa ravintoperäisen soijan yhteydestä pienempään sepelvaltimotaudin riskiin (FDA 2017). Euroopan lääkeviraston raportissa on arvioitu Euroopan talousalueella käytössä olevien soijapapujen etanoliutteita eli kasvirohdostuotteita sisältävien valmisteiden tehoa ja turvallisuutta (EMA 2016). Raportissa todetaan, ettei soijauutteiden tehosta vaihdevuosisoireiden hoitoon saatu pitäviä todisteita, mutta genisteiinin mahdollisia positiivisia vaikutuksia tulisi tutkia lisää. Yleisesti ottaen kohtuullinen normaalisti ravinnosta saatava määrä (25–50 mg/vrk) isoflavo-

neja on tutkimusnäytön ja viranomaisohjeiden (EMA 2016) mukaan turvallista, eikä ravintoperäisten isoflavonien saantia, eli käytännössä kohtuullista soijaproteiinin käyttöä monipuolisen ruokavalion osana, ole nykytiedon valossa tarpeen rajoittaa missään käyttäjäryhmässä. Isoflavoneja sisältäviä ravintolisiä ei ole tutkittu eikä niiden valmistusta tai käyttöä valvota viranomaisten tai terveydenhuollon ammattilaisten toimesta riittävästi, jotta voitaisiin olla varmoja niiden turvallisuudesta erityisesti pitkäaikaisessa käytössä. Sekä eurooppalaiset että yhdysvaltalaiset viranomaiset suosittelevat erityisesti vaihdevuosi-ään ohittaneita ja rintasyöpää sairastavia sekä siihen lääkitystä saavia naisia välttämään isoflavoniuutteiden pitkäaikaista käyttöä. Lisäksi isoflavoneja sisältävien ravintolisien käyttöä ei suositella ollenkaan raskauden aikana, osin myös niiden sisältämien muiden, mahdollisesti sikiöön haitallisesti vaikuttavien, yhdisteiden vuoksi.

SUMMARY

Safety of Isoflavone Supplements and Challenges in Isoflavone Research

→ Jenni Küblbeck*

PhD

Project researcher

jenni.kublbeck@uef.fi

→ Marjo Huovinen

PhD

University Researcher

marjo.huovinen@uef.fi

University of Eastern Finland

School of Pharmacy

Yliopistonranta 1C

70210 Kuopio

Increased use of various food supplements has caused justified concern on the safety of these products. Discussion on the use of soy and red clover isoflavones arises from time to time, as these compounds share structural features with mammalian estrogens and are known to cause both favourable and unfavourable effects. Studies on the role of isoflavones in reproductive disturbances and in the initiation and progression of hormonal cancers, such as breast and prostate cancers, have been conducted largely in *in vitro* cell models and laboratory animals. However, these, together with epidemiological studies, have produced highly contradictory results. Based on current knowledge, nutritional isoflavone exposure is not harmful but limiting the duration of use, or use in general, of isoflavone-containing food supplements is recommended at least in certain disease states. Possible, albeit very modest, effects of isoflavones on morbidity or progression of certain diseases are not favourable enough to recommend the use of isoflavone-containing food supplements instead or together with conventional drug treatment.

Keywords: isoflavone, food supplement, phytoestrogens, cancer, interaction, safety, hormone replacements

Sidonnaisuudet:

Ei ilmoitettuja sidonnaisuuksia.

KIRJALLISUUS

Ajdžanović V, Mojić M, Maksimović-Ivanić D, ym.: Membrane fluidity, invasiveness and dynamic phenotype of metastatic prostate cancer cells after treatment with soy isoflavones. *J Membr Biol* 246: 307-14, 2013

Allred CD, Allred KF, Ju YH ym.: Soy processing influences growth of estrogen-dependent breast cancer tumors. *Carcinogenesis* 25: 1649-57, 2004

Andres S, Abraham K, Appel KE ym.: Risks and benefits of dietary isoflavones for cancer. *Crit Rev Toxicol* 41: 463-506, 2011

Applegate CC, Rowles JL, Ranard KM, ym.: Soy Consumption and the Risk of Prostate Cancer: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients* 10: 40, 2018

Badger TM, Gilchrist JM, Pivik RT ym.: The health implications of soy infant formula. *Am J Clin Nutr* 89: 1668-72, 2009

Balk E, Chung M, Chew P ym.: Effects of soy on health outcomes. *Evid Rep Technol Assess (Summ)* 126: 1-8, 2005

Beekmann K, de Haan LHJ, Actis-Goretti L ym.: The effect of glucuronidation on isoflavone induced estrogen receptor (ER) α and ER β mediated coregulator interactions. *J Steroid Biochem Mol Biol* 154: 245-253, 2015

Bernbaum JC, Umbach DM, Ragan NB ym.: Pilot studies of estrogen-related physical finding in infants. *Environ Health Perspect* 116: 416-20, 2008

Berndt S, Issa ME, Carpentier G, Cuendet M. A Bivalent Role of Genistein in Sprouting Angiogenesis. *Planta Med.* 84: 653-661, 2018

Cabanes A, Wang M, Olivo S ym.: Prepubertal estradiol and genistein exposures up-regulate BRCA1 mRNA and reduce mammary tumorigenesis. *Carcinogenesis* 25: 741-748, 2004

Cambria-Kiely JA: Effect of soy milk on warfarin efficiency. *Ann Pharmacother* 36: 1893-1896, 2002

Cederroth CR, Zimmermann C, Nef S: Soy, phytoestrogens and their impact on reproductive health. *Mol Cell Endocrinol* 355: 192-200, 2012

Chavarro JE, Toth TL, Sadio SM ym.: Soy food and isoflavone intake in relation to semen quality parameters among men from an infertility clinic. *Hum Reprod* 23: 2584-90, 2008

De Wilde A, Maria RC, Courtot G, ym.: Dietary isoflavones act on bone marrow osteoprogenitor cells and stimulate ovary development before influencing bone mass in pre-pubertal piglets. *J Cell Physiol* 212: 51-59, 2007

Diel P, Hertrampf T, Seibel J ym.: Combinatorial effects of the phytoestrogen genistein and of estradiol in uterus and liver of female Wistar rats. *J Steroid Biochem Mol Biol* 102: 60-70, 2006

Dorward AM, Shultz KL, Beamer WG. LH analog and dietary isoflavones support ovarian granulosa cell tumor development in a spontaneous mouse model. *Endocr Relat Cancer* 14: 369-379, 2007

EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to soy isoflavones and maintenance of bone mineral density (ID 1655) and reduction of vasomotor symptoms associated with menopause (ID 1654, 1704, 2140, 3093, 3154, 3590) (further assessment) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal* 10: 2847, 2012a.

EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies: Scientific Opinion on the substantiation of a health claim related to isolated soy protein and reduction of blood LDL-cholesterol concentration pursuant to Article 14 of regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal* 10: 2555, 2012b.

El Touny LH, Banerjee PP: Identification of a biphasic role for genistein in the regulation of prostate cancer growth and metastasis. *Cancer Res* 69: 3695-703, 2009.

European Medicines Agency: Assessment report on Glycine max (L.) Merr., semen. EMA/HMPC/461813/2016

FDA Statement from Susan Mayne, PhD, on proposal to revoke health claim that soy protein reduces risk of heart disease. October 2017 (haettu internetistä 20.2.2019) Saatavilla Internetissä: <https://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm582744.htm>

Figtree GA, Noonan JE, Bhindi R ym.: Estrogen receptor polymorphisms: significance to human physiology, disease and therapy. *Recent Pat DNA Gene Seq* 3: 164-71, 2009.

Fimea: Rohdosvalmisteiden myyntiluvat ja kasvirohdosvalmisteiden myyntiluvat. Haettu internetistä 8.8.2019, https://www.fimea.fi/myyntiluvat/kasvirohdoslaakkeet_ja_homeopaattiset_valmisteet/kasvirohdosvalmisteet

Garrido A, de la Maza MP, Hirsch S ym.: Soy isoflavones affect platelet thromboxane A2 receptor density but not plasma lipids in menopausal women. *Maturitas* 54: 270-276, 2006

Hargreaves DF, Potten CS, Harding C, ym.: Two-week dietary soy supplementation has an estrogenic effect on normal premenopausal breast. *J Clin Endocrinol Metab* 84: 4017–4024, 1999

Hilakivi-Clarke L, Cho E, Onojafe I ym.: Maternal exposure to genistein during pregnancy increases carcinogen-induced mammary tumorigenesis in female rat offspring. *Oncol Rep* 6: 1089–1095, 1999a

Hilakivi-Clarke L, Onojafe I, Raygada M ym.: Prepubertal exposure to zearalenone or genistein reduces mammary tumorigenesis. *Br J Cancer* 80: 1682–1688, 1999b

Hilakivi-Clarke L, Shajahan A, Yu B, de AS. Differentiation of mammary gland as a mechanism to reduce breast cancer risk. *J Nutr* 136: 2697S–2699S, 2006

Homma K, Wakana N, Suzuki Y ym.: Treatment of natto, a fermented soybean preparation, to prevent excessive plasma vitamin K concentrations in patients taking warfarin. *J Nutr Sci Vitaminol* 52: 297301, 2006

Hooper L, Ryder JJ, Kurzer MS ym.: Effects of soy protein and isoflavones on circulating hormone concentrations in pre- and post-menopausal women: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 15: 423-440, 2009

Hüser S, Guth S, Joost HG ym.: Effects of isoflavones on breast tissue and the thyroid hormone system in humans: a comprehensive safety evaluation. *Arch Toxicol*. 92: 2703–2748, 2018

Jarrell J, Foster WG, Kinniburgh D: Phytoestrogens in human pregnancy. *Obstet Gynecol Int* 2012, doi: 10.1155/2012/850313

Johnson KA, Vemuri S, Alsahafi S ym.: Glycone-rich soy isoflavone extracts promote estrogen receptor positive breast cancer cell growth. *Nutr Cancer* 68: 622-633, 2016

Kalaiselvan V, Kalaivani M, Vijayakumar A ym.: Current knowledge and future direction of research on soy isoflavones as therapeutic agents. *Pharmacogn Rev* 4: 111-117, 2010

Kostelac D, Rechkemmer G, Brivida K: Phytoestrogens modulate binding response of estrogen receptors alpha and beta to the estrogen response element. *J Agric Food Chem* 51: 7632-5, 2003

Krizova L, Dadakova K, Kasparovska J, Kasparovsky T. Isoflavones. *Molecules* 24: 1076, 2019

Lakshman M, Xu L, Ananthanarayanan V, ym.: Dietary genistein inhibits metastasis of human prostate cancer in mice. *Cancer Res* 68: 2024-32, 2008

Lecomte S, Demay F, Ferriere F ym.: Phytochemicals targeting estrogen receptors: Beneficial rather than adverse effects. *Int J Mol Sci* 18: 1381, 2017

Lian Z, Niwa K, Tagami K ym.: Preventive effects of isoflavones, genistein and daidzein, on estradiol-17beta-related endometrial carcinogenesis in mice. *Jpn J Cancer Res* 92: 726–734, 2001

Mahmoud AM, Yang W, Bosland MC: Soy isoflavones and prostate cancer: a review of molecular mechanisms. *J Steroid Biochem* 140: 116-132, 2014

McMichael-Phillips DF, Harding C, Morton M, ym.: Effects of soy-protein supplementation on epithelial proliferation in the histologically normal human breast. *Am J Clin Nutr* 68:1431S–1435S, 1998

Messina M: Soybean isoflavone exposure does not have feminizing effects on men: a critical examination of the clinical evidence. *Fertil Steril* 93: 2095-2104, 2010

Messina M: Soy and health update: evaluation of the clinical and epidemiologic literature. *Nutrients* 8: 754, 2016

Messina M, Messina V: The role of soy in vegetarian diets. *Nutrients* 2: 855-888, 2010

Myung SK, Ju W, Choi HJ, Kim SC. Soy intake and risk of endocrine-related gynaecological cancer: A meta-analysis. *BJOG* 116: 1697–1705, 2009

Nakamura H, Wang Y, Kurita T, et al.: Genistein increases epidermal growth factor receptor signaling and promotes tumor progression in advanced human prostate cancer. *PLoS One* 6:e20034, 2011

Newbold RR, Banks EP, Bullock B, Jefferson WN. Uterine adenocarcinoma in mice treated neonatally with genistein. *Cancer Res* 61: 4325–4328, 2001

NTP (National Toxicology Program), Toxicology and Carcinogenesis Studies of Genistein (CAS No. 446-72-0) in Sprague-Dawley Rats (Feed Study). *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser* 1–240, 2008

PDQ Integrative, Alternative, and Complementary Therapies Editorial Board. Prostate Cancer, Nutrition, and Dietary Supplements (PDQ®): Health Professional Version. 2019 Jan 14. In: *PDQ Cancer Information Summaries* [Internet]. Bethesda (MD): National Cancer Institute (US); 2002-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK83261/>

Pons DG, Nadal-Serrano M, Torrens-Mas M ym.: The phytoestrogen genistein affects breast cancer cells treatment depending on the ERa/ ERb ratio. *J Cell Biochem* 117: 218-229, 2016

Rabiau N, Kossai M, Braud M, ym.: Genistein and daidzein act on a panel of genes implicated in cell cycle and angiogenesis by polymerase chain reaction arrays in human prostate cancer cell lines. *Cancer Epidemiol* 34: 200-6, 2010

Ronis MJJ: Effects of soy containing diet and isoflavones on cytochrome P450 enzyme expression and activity. *Drug Metab Rev*, 2016, doi: 10.1080/03602532.2016.1206562

van Die MD, Bone KM, Williams SG ym.: Soy and soy isoflavones in prostate cancer: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *BJU Int.* 113: E119-30, 2014

Vanegas JC, Afeiche MC, Gaskins AJ ym.: Soy food intake and treatment outcomes of women undergoing assisted reproductive technology. *Fertil Steril* 103: 749-755, 2015

Wang J, Eltoum IE, Lamartiniere CA: Genistein alters growth factor signaling in transgenic prostate model (TRAMP). *Mol Cell Endocrinol* 219: 171-80, 2004

Zhou T, Meng C, He P: Soy isoflavones and their effects on xenobiotic metabolism. *Curr Drug Metab* 20: 46-53, 2019

