



Leane Lehmann<sup>1</sup> · Sebastian T. Soukup<sup>2</sup> · Clarissa Gerhäuser<sup>3</sup> · Günter Vollmer<sup>4</sup> · Sabine E. Kulling<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, Würzburg, Deutschland

<sup>2</sup> Institut für Sicherheit und Qualität bei Obst und Gemüse, Max Rubner-Institut, Karlsruhe, Deutschland

<sup>3</sup> Epigenomik und Krebsrisikofaktoren, Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg, Deutschland

<sup>4</sup> Institut für Zoologie, Technische Universität Dresden, Dresden, Deutschland

## Isoflavonhaltige Nahrungsergänzungsmittel

### Einleitung

Isoflavone (IF) umfassen eine vielfältige Substanzklasse phenolischer sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe (Kapitel *Isoflavone*) und kommen in Soja und anderen Leguminosen vor. Wie das weibliche Sexualhormon 17 $\beta$ -Estradiol (E2) können sie an Estrogenrezeptoren (ERs) binden und rezeptorvermittelt oder über eine Beeinflussung der Wirkung von E2 eine Hormonwirkung auslösen (Kapitel *Isoflavone und ihre estrogen Wirkung*). Bei Asiatinnen, die sich traditionell ernähren und Soja-Lebensmittel regelmäßig verzehren, treten Brustkrebs und Hormonmangelbeschwerden nach der Menopause im Vergleich zu Frauen mit einer westlichen Ernährungsweise weniger häufig auf. Die positiven Wirkungen der asiatischen Ernährung werden häufig mit der Aufnahme von Soja und hier im Speziellen mit IF assoziiert. Dies dürfte ein Grund dafür sein, weshalb IF gerade in westlichen Industrieländern in angereicherter Form als Nahrungsergänzungsmittel (NEM) angeboten werden (Kapitel *Einsatz von Isoflavonen als Nahrungsergänzungsmittel*). Die durchschnittliche Aufnahmemenge an IF kann bei Verwendung von IF-haltigen NEM (IF-NEM) deutlich höher sein als die über Lebensmittel bei Asiaten [1, 2]. Dies wirft die Frage der Sicherheit von IF-NEM auf (Kapitel *Sicherheitsbewertung von Isoflavonen*).

### Isoflavone

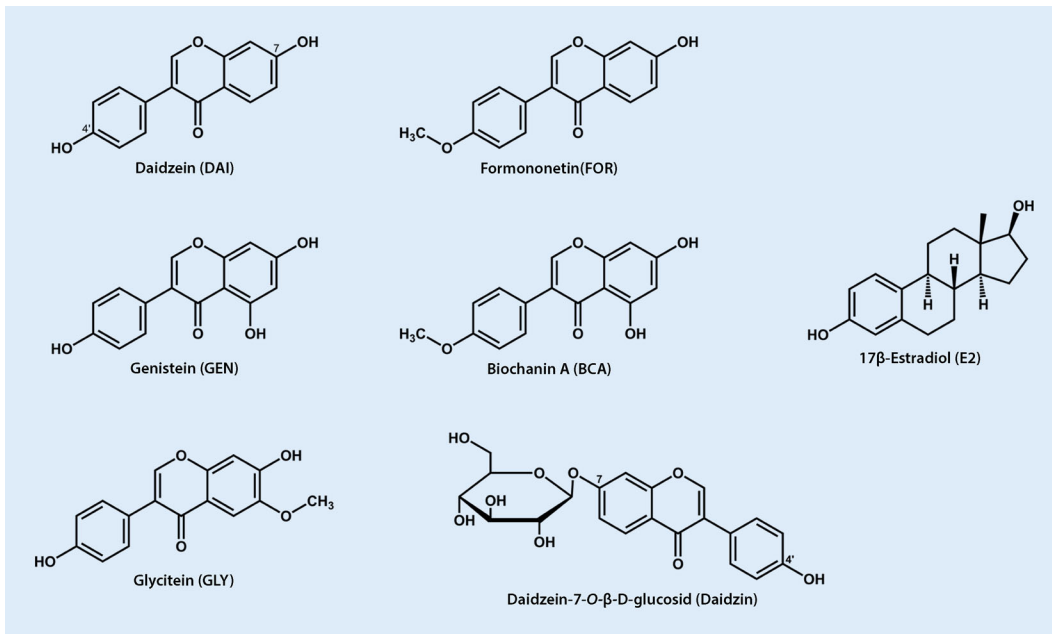
IF zählen zu den Flavonoiden und kommen insbesondere in Pflanzen der Familie der *Fabaceae* (= *Leguminosae*, „Hülsenfrüchtler“) vor. Wichtige Vertreter sind die als Kulturpflanze bedeutende Sojabohne (*Glycine max*) sowie Rotklee (*Trifolium pratense*) und Kudzu (*Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi) [3, 4]. Für die Pflanze spielen IF eine wichtige Rolle bei der Abwehr von Bakterien und Pilzen, bei der Sojabohne sind sie zudem für das Zustandekommen der Symbiose mit Knöllchenbakterien bedeutend [5, 6].

Sojabohnen enthalten die IF Daidzein (DAI), Genistein (GEN) und Glycitein (GLY), während in Rotklee vor allem Formononetin (FOR) und Biochanin A (BCA) vorkommen (Abb. 1). In der Pflanze, in nativen Sojabohnen sowie nicht fermentierten Sojaprodukten liegen IF überwiegend als Zucker-Konjugate (Glycoside) und weniger in ihrer freien Form, den sog. Aglykonen, vor [4, 7]. IF weisen im Vergleich zu anderen Flavonoiden eine recht gute orale Verfügbarkeit auf. Wahrscheinlich werden sie nach Abspaltung der Zuckereinheit durch endogene oder bakterielle Enzyme im Darm als Aglykone in den Körper aufgenommen. Ob und in welchem Umfang auch eine Aufnahme als Glucoside erfolgt, ist nicht abschließend geklärt.

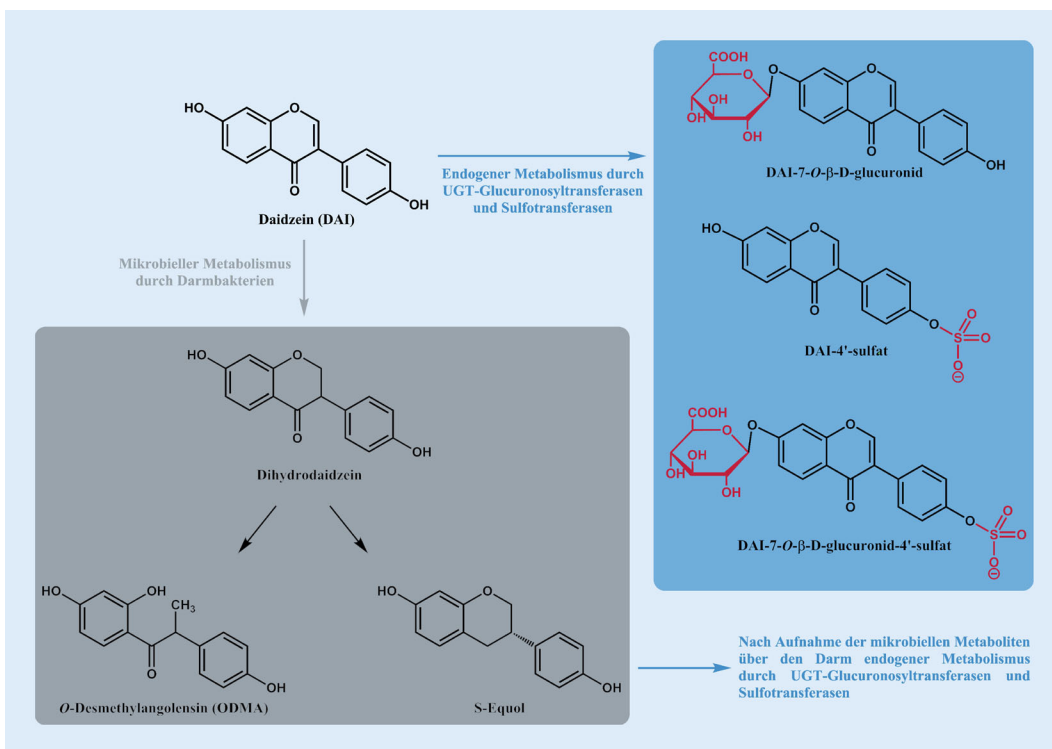
Darmbakterien können IF durch reduktiven Stoffwechsel strukturell verändern. Dieser mikrobielle Metabolismus ist durch große interindividuelle Unter-

schiede geprägt: DAI kann zunächst zu Dihydro-DAI metabolisiert werden, das dann weiter zu *O*-Desmethylangolensin (ODMA) und/oder *S*-Equol umgesetzt werden kann (dargestellt in Abb. 2). GEN kann analog dazu zu Dihydro-GEN und weiter zu 6'-Hydroxy-ODMA und 4-Ethylphenol abgebaut werden [7]. Die Zusammensetzung unserer Darmmikrobiota entscheidet letztendlich darüber, welche dieser mikrobiellen Metaboliten in welchem Umfang gebildet werden. So kann *S*-Equol durchschnittlich nur von einem Drittel der westlichen Bevölkerung in nennenswerter Menge gebildet werden. Aufgrund seiner höheren estrogenen Aktivität im Vergleich zu DAI und anderen mikrobiellen Metaboliten wird *S*-Equol hinsichtlich der biologischen Wirkung von IF aber als ein zentraler Metabolit angesehen [8]. Die quantitative Bedeutung des nichtestrogenen GEN-Metaboliten 4-Ethylphenol ist bisher nicht geklärt.

IF und ihre mikrobiellen Metaboliten werden zudem in Darm- und Leberzellen umfangreich durch körpereigene Fremdstoff-metabolisierende Enzyme verstoffwechselt (endogener Metabolismus). Die Hauptprodukte sind dabei wasserlösliche Glucuronsäure- und Sulfat-Konjugate (Abb. 2; [7, 9, 10]), die größtenteils über den Urin ausgeschieden werden. Im Blutplasma liegen IF zu über 98 % in Form dieser Phase-II-Konjugate vor. Zu beachten ist, dass die Verstoffwechslung der IF in Menschen und Labortieren wie Ratte und Maus unterschiedlich ist [10]. Es ist anzunehmen, dass dieser



**Abb. 1** ◀ Chemische Strukturformeln von ausgewählten Isoflavonen sowie 17β-Estradiol



**Abb. 2** ◀ Mikrobieller und endogener Metabolismus von Daidzein. Der endogene Metabolismus ist stark vereinfacht mit ausgewählten Phase-II-Metaboliten dargestellt

Unterschied auch die biologische Wirkung beeinflusst und damit die Übertragbarkeit von Ergebnissen aus tierexperimentellen Studien auf den Menschen einschränkt (siehe die Kapitel *Isoflavone und ihre estrogenen Wirkung* und *Sicherheitsbewertung von Isoflavonen*).

### Isoflavone und ihre estrogenen Wirkung

Pflanzeninhaltsstoffe mit estrogenen Wirkung werden häufig auch als Pflanzenestrogene oder Phytoestrogene bezeichnet. Mechanistisch kann eine estrogenen Wirkung auf mehreren Wegen hervorgerufen werden. An dieser Stelle werden die direkte Interaktion mit den ERs und

die mögliche Beeinflussung des Plasmaspiegels körpereigener Estrogene durch IF besprochen.

### Isoflavone und Estrogenrezeptoren

Zur Bestimmung der direkten Interaktion wurde die Bindefähigkeit von IF und einigen Metaboliten an die ERs ermittelt. Die Daten werden dabei als relative Bin-

dungsaffinität (RBA) angegeben, wobei die Binfähigkeit bzw. die Wirkung von E2 als 100 % gesetzt wird [11–13]. Daten liegen bislang für DAI, GEN, GLY, FOR, BCA, Dihydro-DAI, Dihydro-GEN, OD-MA, S-Equol sowie für die Glucoside und Glucuronide von DAI und GEN vor. Eine RBA von >1 % wurde nur für GEN und S-Equol gemessen, für alle anderen IF und Metaboliten lagen die Werte (bezogen auf E2) zwischen <0,01 % und 0,5 %. Dies gilt für beide ERs, ER $\alpha$  wie auch für ER $\beta$ . Die biologische Konsequenz der Bindung an die ERs wurde häufig als Stärke der transkriptionellen Aktivität in sog. Reporter-Gen-Assays gemessen. Die Ergebnisse aus unterschiedlichen Testsystemen zeigen dabei eine hohe Variabilität. Diese hängt u. a. mit dem Design der Testsysteme und dem gemessenen Endpunkt zusammen, ob z. B. Ligandenbindung, Aktivierung und transkriptionelle Aktivität oder nachgeschaltete Mechanismen wie die Proliferation von MCF-7-Brustkrebszellen (E-Screen) betrachtet wurden [11–13]. Die biologische Aktivität der IF wird in der Literatur häufig den Aglykonen zugeschrieben, und die Konjugate werden per se als biologisch inaktiv eingestuft. Einige Studien zeigen jedoch, dass z. B. auch IF-Glucoside und einige Phase-II-Metaboliten die Proliferation von MCF-7-Brustkrebszelllinien stimulieren können [14–16]. Dies könnte entweder darin begründet sein, dass die Aglykone durch Hydrolyse der Konjugate freigesetzt werden, wie dies bei den Glucosiden zu vermuten ist, oder aber, dass die Konjugate als solche bioaktiv sind. So zeigte zum Beispiel der Phase-II-Metabolit DAI-7-sulfat in einer In-vitro-Studie eine höhere estrogenische Aktivität als das Aglykon DAI, die auf eine direkte Wechselwirkung des Sulfat-Konjugats mit dem ER zurückgehen dürfte [16].

In der Regel wird eine stärkere RBA zum ER $\beta$  als zum ER $\alpha$  gemessen [12, 13]. Die Präferenz der IF zum ER $\beta$  wird oft als Schlüsselargument für eine mögliche risikofreie Anwendung von IF beim Menschen herangezogen, obwohl diese, und dies ist zu beachten, relativ schwach ausgeprägt ist. So weist GEN als wirkstärkstes IF zwar eine 18- bis 31-fach höhere ER $\beta$ -Präferenz auf, die Präferenzen von

Bundesgesundheitsbl 2017 · 60:305–313 DOI 10.1007/s00103-016-2497-2  
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2017

L. Lehmann · S. T. Soukup · C. Gerhäuser · G. Vollmer · S. E. Kulling

## Isoflavonhaltige Nahrungsergänzungsmittel

### Zusammenfassung

Isoflavone (IF) sind Inhaltsstoffe von Soja und anderen Leguminosen mit schwacher estrogenischer Wirkung. Sie werden in angereicherter Form als Nahrungsergänzungsmittel (NEM) angeboten, häufig mit Auslobung einer Wirkung gegen Wechseljahresbeschwerden. Der Beitrag gibt eine Übersicht über Vorkommen und Verstoffwechslung, beschreibt die Marktlage und fasst die Datenlage zur Wirksamkeit und Sicherheit von IF bzw. IF-haltigen NEM (IF-NEM) zusammen. Die biologische Wirkung von IF wird v. a. der Aktivierung der Estrogenrezeptoren zugeschrieben. Studien zum Einfluss auf endogene Estrogenspiegel in Frauen zeigen keine einheitlichen Ergebnisse. Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) hat bisher alle beantragten Health Claims für IF abgelehnt, da wissenschaftlich gesicherte Belege für die postulierten Wirkungen fehlen. Laut aktueller Risikobewertung der EFSA ergaben die ausgewerteten Humanstudien keine Hinweise auf adverse Effekte durch IF-NEM in den Zielorganen Brustdrüse, Uterus und

Schilddrüse bei gesunden postmenopausalen Frauen. Die Bewertung erlaubt jedoch keine allgemeingültigen Aussagen zur Sicherheit von IF-NEM. Untersuchungen in Tiermodellen sind aufgrund von Unterschieden in der Verstoffwechslung von IF, im biologischen Entwicklungsstadium zum Zeitpunkt der Exposition und in der zeitlich begrenzten Aufnahme von IF in bestimmten Lebensphasen nur eingeschränkt auf den Menschen übertragbar.

Fazit: Keine der beworbenen Wirkungen für IF konnte bislang zweifelsfrei nachgewiesen werden. Mögliche unerwünschte Wirkungen können auf Basis der vorliegenden Daten nicht völlig ausgeschlossen werden. Dies gilt vor allem für Frauen mit noch nicht erkannten Erkrankungen wie (prä-)kanzerogenen Veränderungen in der Brust.

### Schlüsselwörter

Isoflavone · Nahrungsergänzungsmittel · Estrogenität · Wechseljahresbeschwerden · Sicherheit

## Isoflavone-containing dietary supplements

### Abstract

Isoflavones (IFs) from soy and other legumes have weak estrogenic properties. Isolated IFs are available as dietary supplements and advertised to alleviate symptoms of menopause. The present chapter provides an overview of the occurrence, the chemical structure of IFs and their metabolites, the market situation and reviews the current evidence on the efficacy and safety of IF-containing dietary supplements. The biological effectiveness of IFs is attributable to the activation of the estrogen receptor (ER). Studies on the influence of IFs on endogenous estrogen levels in women show inconsistent results. So far, the European Food Safety Authority (EFSA) has rejected all submitted health claims for IFs due to insufficient scientific evidence for any of the postulated health effects. Based on the results of their recent risk assessment, the EFSA concluded that the available human studies did not support the hypothesis of adverse effects of isolated IFs

on the human mammary gland, uterus or thyroid in healthy postmenopausal women. However, the assessment does not allow a general statement on the safety of IF-containing dietary supplements. Studies in animal models are often not comparable with the complex interactions in humans due to differences in the metabolism of IFs, in the developmental stage at time of consumption and in the temporarily restricted uptake of IFs during certain stages of life.

Conclusion: So far, for none of the advertised functions is unequivocal scientific evidence available. On the basis of available data, potential unwanted side effects cannot be fully excluded. This holds particularly true for women with undiagnosed diseases, especially for those with undetected precancerous lesions in the mammary gland.

### Keywords

Isoflavones · Dietary supplements · Estrogenicity · Menopausal symptoms · Safety

synthetischen selektiven Agonisten liegen aber deutlich höher (zwischen >70- und >200-fach) [17].

In vivo ist der sog. uterotrophe Assay [18] mit juvenilen oder ovariektomierten, d. h. kastrierten Nagetieren das wichtigste Testsystem. Die estrogenen Aktivität einer Testsubstanz wird hier über die Zunahme des Uterusfeuchtgewichts erfasst, häufig ergänzt durch sensitivere Parameter. Hierzu zählen die Messung der uterinen Epithelhöhe, die immunhistochemische Bestimmung der Proliferationsaktivität im uterinen Epithel oder die Messung der Expression Estrogen-regulierter Zielgene. Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) hat bei ihrer Bewertung möglicher adverser Effekte durch die Einnahme von IF-NEM auf das Uterusgewebe diese empfindlicheren Parameter mit herangezogen [1] und in ihrer Gesamtbetrachtung eine schwache Estrogenität von IF-NEM bei höheren Dosierungen in diesem In-vivo-Testsystem dokumentiert [1].

Insgesamt belegen die In-vitro- wie In-vivo-Ergebnisse, dass IF in der Lage sind, an ER $\alpha$  und ER $\beta$  zu binden, diese zu aktivieren und ER-vermittelte zelluläre Antworten auszulösen. Die ER-vermittelte Estrogenität der IF ist jedoch schwach ausgeprägt.

## Isoflavone und der Einfluss auf körpereigene Estrogenspiegel

IF können die Bildung und Biotransformation körpereigener Estrogene beeinflussen. Bei der Interpretation der nachfolgenden Studien ist zu berücksichtigen, dass die quantitative Bestimmung von Estrogenen in Geweben und Plasma in der Regel durch immunologische Methoden erfolgte, deren Eignung und Aussagekraft limitiert ist [19]. Auf Studien, die die Wirkung von IF-NEM in Zielorganen wie Brust, Uterus und Schilddrüse untersuchten, wird bei der Zusammenfassung der Stellungnahme der EFSA (Abschnitt *Aktuelle EFSA-Stellungnahme*) eingegangen, auf Studien in Brustkrebspatientinnen in Abschnitt *Problematik der Untersuchung von Isoflavonen und Brustkrebs*.

Die Plasmakonzentration der körpereigenen Estrogene (E2 und Estron)

ist in asiatischen Frauen, die sich traditionell ernähren, im Vergleich zu westlichen Frauen signifikant niedriger [2, 20]. In einer Metaanalyse, die insgesamt 47 westliche und asiatische Studien umfasst, wurde jedoch kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Aufnahme von IF (ohne Berücksichtigung der IF-Quelle), und den Spiegeln zirkulierender Estrogene festgestellt, weder in prä- noch in postmenopausalen Frauen [21]. Bei prämenopausalen Frauen war die Aufnahme von IF jedoch mit einer signifikanten Erniedrigung der LH- und FSH-Konzentration sowie mit einer signifikanten Verlängerung des Menstruationszyklus assoziiert. Gerade Letzteres könnte als eine antiestrogene Wirkung der IF interpretiert werden. In der getrennten Auswertung der Studien nach IF-Quellen war die Aufnahme von IF aus Sojaextrakten, wie sie in IF-NEM enthalten sind, assoziiert mit einer signifikanten Erhöhung der E2-Konzentration im Blut postmenopausaler Frauen (14 Studien mit  $n = 406$  bzw.  $n = 398$  Frauen in der Interventions- und Kontrollgruppe; Konfidenzintervall nahe Null [0,03–0,4]) [21]. Die Relevanz dieses Befundes ist unklar. Eine andere Meta-Analyse zeigt, dass ein höherer E2-Spiegel mit verschiedenen Risikofaktoren für Brustkrebs in postmenopausalen Frauen assoziiert ist [22, 23].

## Einsatz von Isoflavonen als Nahrungsergänzungsmittel

In asiatischen Ländern, in denen Soja Bestandteil der üblichen Ernährung ist, liegt die durchschnittliche Aufnahme von IF bei etwa 25–50 mg/Tag, während sie in westlichen Ländern <2 mg/Tag beträgt [24, 25]. Aufgrund der postulierten gesundheitsfördernden Wirkungen werden IF auch in Deutschland in angereicherter Form als NEM oder als sog. „Diätetische Lebensmittel für besondere medizinische Zwecke“ angeboten.

## Marktlage in Deutschland

In Deutschland sind IF-NEM in Apotheken, Drogerien, Reformhäusern und auch Supermärkten frei verkäuflich in verschiedenen Darreichungsformen

(Kapseln, Dragees oder Tabletten) erhältlich. Dabei handelt es sich hauptsächlich um Soja- und/oder Rotklee-Extrakte, denen fast immer weitere Substanzen, wie Vitamine, Mineralstoffe, Spurenelemente sowie z. T. auch andere Pflanzenextrakte (z. B. Salbei, Melisse, Leinsamen) oder pflanzliche Komponenten (z. B. Nachtkerzenöl) zugesetzt werden. Die Verzehrsempfehlungen der Hersteller liegen meist zwischen 20 und 100 mg IF täglich. Auf der Verpackung fehlen oft präzise qualitative und quantitative Angaben, v. a. zur genauen IF-Zusammensetzung. Häufig wird nur der Gehalt an Gesamt-IF angegeben, selten darüber hinaus auch der von einzelnen IF wie DAI oder GEN. Die Angaben erfolgen in der Regel als Aglykon-Äquivalente, unabhängig davon, ob die IF tatsächlich als Aglykone oder, wie dies häufig bei Sojaextrakten der Fall ist, als Zuckerkonjugate vorliegen. Selten erfolgt die Angabe auch als Gesamt-IF-Gehalt, welcher die Zuckerkonjugate berücksichtigt. Die Gehalte an IF-Zuckerkonjugaten können in Aglykon-Gehalte umgerechnet werden. So entsprechen 100 mg DAI-Glucosid (auch Daidzin genannt) 61 mg DAI. Der IF-Gehalt der eingesetzten Soja- oder Rotklee-Extrakte liegt meist bei 10–65 %. Die übrigen Inhaltsstoffe der Extrakte, bei Soja z. B. Saponine, werden in der Regel nicht benannt.

## Bewerbung

Die Zielgruppe für IF-NEM sind hauptsächlich Frauen in und nach den Wechseljahren. Die Präparate versprechen, u. a. eine verbesserte Lebensqualität und Nährstoffversorgung in dieser Lebensphase sowie die Linderung von Beschwerden, wie Hitzewallungen, Schweißausbrüchen oder Stimmungsschwankungen. Da Health-Claims für IF durch die EFSA nicht anerkannt wurden (siehe Abschnitt *Wissenschaftliche Grundlagen*; [26]), werden IF inzwischen meist nicht mehr direkt mit gesundheitsfördernden Wirkungen beworben. Vielmehr werden Nährstoffe zugesetzt, für die gesundheitliche Wirkungen wissenschaftlich belegt und von der EFSA genehmigt sind. Dies führt dazu, dass das Gesamtprodukt be-



**Tab. 1** Übersicht der für Isoflavone (Isoflavone, Soja-Isoflavone, isoflavonhaltige Präparate, Extrakte, Sojalebensmittel) auf Basis der beantragten Health Claims (gemäß Art. 13 Abs. 1) kategorisierten Gesundheitseffekte und deren Bewertung durch das Gremium für Diätetische Produkte, Ernährung und Allergien (NDA Panel) der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA)

Gesundheitsbezug; angenommene Zielgruppe	Bewertung	Eintrag ID <sup>1</sup>
Reduktion Menopause-assoziiertes vasomotorischer Symptome; peri- und postmenopausale Frauen	Unzureichende wissenschaftliche Belege für eine Ursache-Wirkungs-Beziehung. <sup>2,3</sup>	1654 <sup>a</sup> 1704 <sup>a</sup> 2140 <sup>c</sup> 3093 <sup>a</sup> 3154 <sup>b</sup> 3590 <sup>a</sup>
Erhalt der Knochenmineraldichte; postmenopausale Frauen	Unzureichende wissenschaftliche Belege für eine Ursache-Wirkungs-Beziehung. <sup>3,4</sup>	1655 <sup>a</sup>
Aufrechterhaltung normaler Blut-LDL-Cholesterolkonzentrationen; allgemeine Bevölkerung	Ursache-Wirkungs-Beziehung ist nicht belegt. <sup>2</sup>	1135 <sup>c</sup> 1704 <sup>a</sup> 3093 <sup>a</sup>
Beitrag zur kardiovaskulären Gesundheit; allgemeine Bevölkerung	Die ausgelobte Wirkung ist unzureichend definiert und konnte daher nicht bewertet werden. <sup>2</sup>	3587 <sup>a</sup>
Beitrag zur Gesundheit der oberen Atemwege; allgemeine Bevölkerung	Die ausgelobte Wirkung ist unzureichend definiert und konnte daher nicht bewertet werden. <sup>2</sup>	3589 <sup>a</sup>
Beitrag zum normalen Haarwachstum; allgemeine Bevölkerung	Eine Ursache-Wirkungs-Beziehung ist nicht belegt. <sup>2</sup>	4254 <sup>d</sup> 1704 <sup>a</sup>
Erhalt der normalen Spannkraft der Haut; postmenopausale Frauen	Die ausgelobte Wirkung bezieht sich nicht auf eine Körperfunktion wie in Art. 13 der Verordnung gefordert. <sup>2</sup>	1704 <sup>a</sup>
Hilft, die Beweglichkeit der Gelenke während und nach den Wechseljahren zu erhalten; postmenopausale Frauen	Eine Ursache-Wirkungs-Beziehung ist nicht belegt. <sup>5</sup>	3144 <sup>b</sup>
Schutz der DNA, Proteine und Lipide vor oxidativen Schäden; allgemeine Bevölkerung	Eine Ursache-Wirkungs-Beziehung ist nicht belegt. <sup>2</sup>	4245 <sup>c</sup> 1286 <sup>c</sup>
Vorbeugung und Behandlung von Prostatakrebs; allgemeine Bevölkerung	Die ausgelobte Wirkung nimmt Bezug auf die Vorbeugung und Behandlung von Krankheiten, was für Lebensmittel verboten ist. <sup>6</sup>	1859 <sup>a</sup>
Unterstützt die normale Funktion der Prostata; allgemeine Bevölkerung	Die ausgelobte Wirkung nimmt Bezug auf die Vorbeugung und Behandlung von Krankheiten, was für Lebensmittel verboten ist. <sup>2</sup>	3588 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Nummer des Eintrags in der konsolidierten Liste, die der EFSA zur Bewertung vorlag

<sup>2</sup>EFSA Journal 2011; 9(7):2264

<sup>3</sup>EFSA Journal 2012; 10(8):2847

<sup>4</sup>EFSA Journal 2009; 7(9):1270

<sup>5</sup>EFSA Journal 2010; 8(2):1493

<sup>6</sup>EFSA Journal 2011; 9(6):2228

Der Antrag (ID) wurde für folgendes Lebensmittel/Substanz gestellt:

<sup>a</sup>Soja-Isoflavone

<sup>b</sup>Isoflavone

<sup>c</sup>Soja, Sojalebensmittel (Isoflavone)

<sup>d</sup>Isoflavone, Sojaextrakt (Informationen aus: EU Register on Nutrition and Health Claims; <http://ec.europa.eu/nuhclaims/?event=search>; Stand 31.08.2016)

worben werden kann. Beispiele für solche Zusätze sind Vitamin B6 („trägt zur Regulierung der Hormontätigkeit bei“), Calcium („für die Erhaltung normaler Knochen und Zähne“) oder Pantothen-säure („Verringerung von Müdigkeit und Ermüdung“) [27–29].

## Wissenschaftliche Grundlagen

Seit Inkrafttreten der Health-Claims-Verordnung (Verordnung (EG) Nr. 1924/2006 des europäischen Parlaments und des Rates vom 20. Dezember 2006 über Nährwert- und gesundheitsbezogene Angaben über Lebensmittel, HCVO) müssen gesundheitsbezogene Angaben bei Lebensmitteln durch die EFSA geprüft werden. Zur Bewerbung von IF wurden zahlreiche Health Claims zur Prüfung bei der EFSA eingereicht. Vom EFSA Panel für Diätetische Produkte, Ernährung und Allergien wurden die Claims hinsichtlich ihres gesundheitlichen Bezuges kategorisiert und bewertet. Keiner der beantragten Health Claims wurde bisher genehmigt. Entweder entsprachen die gesundheitsbezogenen Angaben formal nicht den Vorgaben der HCVO, oder die EFSA sah keinen oder keinen wissenschaftlich ausreichend gesicherten Zusammenhang zwischen der Aufnahme von IF und der jeweils ausgelobten Wirkung (zusammengefasst in **Tab. 1**). Auch für die hauptsächlich beworbenen Anwendungsgebiete für IF-NEM, wie die Linderung von Wechseljahresbeschwerden oder Wirkungen auf die Knochengesundheit, sind die wissenschaftlichen Belege trotz einer Vielzahl von humanen Interventions- und klinischen Studien nach wie vor unzureichend, da die Studien zu sehr uneinheitlichen Ergebnissen kommen.

Ein wichtiger Grund dafür sind Unterschiede im Design der Studien hinsichtlich der verwendeten IF-Quellen und Dosierungen, der Studiendauern wie auch der Probandenkollektive. Als IF-Quellen werden manchmal isolierte IF (wie z. B. GEN), sehr häufig Sojaextrakte, Sojaproteinisolate oder aber auch Soja-Lebensmittel verwendet, die je nach Verarbeitung auch andere potenziell bioaktive Stoffe wie Saponine, Phytinsäure, Phytosterole oder das Peptid Lunasin ent-

**Tab. 2** Dosierungen (mg/d) und Einnahmedauer (Monate) von unterschiedlichen isoflavonreichen Nahrungsergänzungsmitteln (IF-NEM) ohne Hinweis auf schädliche Effekte auf Brust, Gebärmutter und Schilddrüse in gesunden Frauen nach der Menopause und daraus abgeleitete Orientierungswerte. Diese sind nur gültig für die jeweilige Art des NEM, dessen Einnahmedauer und angegebene Dosierung der Isoflavone (IF). Quelle: [1]

Art des NEM	Brust		Gebärmutter		Schilddrüse		Orientierungswert	
	mg/d	Monate	mg/d	Monate	mg/d	Monate	mg/d	Monate
Soja-IF/ Sojaextrakt	100 (Gesamt-IF)	10	150 (Gesamt-IF)	30	200 (Aglykone)	24	100 (Gesamt-IF)	10
Soja-Proteine	99 (Aglykone)	12	120 (Aglykone)	6	132 (Aglykone)	3	99 (Aglykone)	3
Daidzein-reiche IF	120 (Gesamt-IF)	24	72 (Gesamt-IF)	6	120 (Aglykone)	24	72 (Gesamt-IF)	6
Genistein	54 <sup>a</sup>	36	54 <sup>a</sup>	36	54 <sup>a</sup>	36	54	36
Rotklee	43,5 (Gesamt-IF)	12	80 (Aglykone)	3	120 (Aglykone)	12	43,5 (Gesamt-IF)	3

<sup>a</sup>Daten von einer Interventionsstudie, in der alle drei Zielorgane betrachtet wurden

halten können. Eine zusammenfassende Auswertung von Studien wird auch durch lückenhafte Angaben erschwert. So sind die IF-Quellen hinsichtlich der enthaltenen IF, ihrer chemischen Form (Aglykon oder Glycosid) oder möglicher bioaktiver Begleitstoffe analytisch oft unzureichend charakterisiert und auch IF-Plasmaspiegel nicht immer aufgeführt. Studien zur Bioverfügbarkeit von IF zeigen, dass die chemische Form eine entscheidende Rolle spielen kann: So wird bei gleicher einmaliger Aufnahmemenge von DAI in Form des Glucosids Daidzin im Vergleich zum DAI-Aglykon eine etwa 5-fach höhere Plasmakonzentration erreicht [30]. Ein weiteres wichtiges Kriterium für eine biologische Wirkung ist die umfangreiche wie auch interindividuell stark unterschiedliche Metabolisierung von IF im Menschen (siehe Kapitel *Isoflavone* sowie die Zusammenfassung in [7]), die für die widersprüchlichen Studienergebnisse mitverantwortlich sein könnte. Auf die Bedeutung von S-Equol wurde bereits in Kapitel *Isoflavone* eingegangen.

## Sicherheitsbewertung von Isoflavonen

Da IF-NEM in unterschiedlichen Dosierungen und Präparaten frei erhältlich sind, stellt sich die Frage nach ihrer Sicherheit. Erste Bedenken von offizieller Seite wurden in Europa zunächst vom britischen *Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment* im Jahr 2003 geäußert [31]. In Deutschland legte die Senatskommission zur gesundheitlichen Bewertung von Lebensmitteln der Deut-

schen Forschungsgemeinschaft [32] 2006 eine ausführliche Stellungnahme vor, der sich 2007 das Bundesinstitut für Risikobewertung [33] anschloss. Letzteres richtete 2009 eine Anfrage an die EFSA, eine Risikobewertung für Frauen in der Peri- und Postmenopause vorzunehmen und eine sichere Dosis für die Einnahme von IF-NEM für diese Bevölkerungsgruppe abzuleiten. Die Stellungnahme der EFSA wurde im Oktober 2015 veröffentlicht [1] und wird hier kurz zusammengefasst. Auf besonders kritische Punkte bei der Untersuchung des Einflusses von IF auf das Brustkrebsrisiko wird im zweiten Teil dieses Kapitels eingegangen.

## Aktuelle EFSA-Stellungnahme

Die EFSA hat mögliche unerwünschte Wirkungen auf die Zielorgane Brust, Gebärmutter und Schilddrüse in Frauen in und nach der Menopause durch die Einnahme von IF-NEM bewertet [1]. Ein Zusammenhang zwischen der Einnahme von IF-NEM und einem erhöhten Brustkrebsrisiko für postmenopausale Frauen konnte in den verfügbaren vier epidemiologischen Studien (insgesamt 2216 Frauen mit IF-Einnahme) nicht beobachtet werden. Ebenso konnten in Interventionsstudien weder eine Erhöhung der mammographischen Dichte des Brustgewebes (741 Frauen, acht Studien), noch histopathologische Veränderungen (75 Frauen, zwei Studien) nach Einnahme von IF-NEM festgestellt werden [1].

Ob IF-NEM das Risiko einer Krebserkrankung in Gebärmutter und Schilddrüse erhöhen können, wurde epidemiologisch bisher nicht untersucht. Eine Er-

höhung der Dicke des Endometriums (1484 Frauen), histopathologische Veränderungen der Gebärmutter (677 Frauen) oder klinisch relevante Änderungen der Schilddrüsenfunktion (925 Frauen), bedingt durch die Einnahme von IF-NEM, wurden in der Zielgruppe bisher nicht beobachtet [1].

In ihrer Stellungnahme weist die EFSA darauf hin, dass eine allgemein gültige Aussage zur Sicherheit von IF-NEM für peri- und postmenopausale Frauen zurzeit nicht möglich ist. Zum einen ist die Gesamtzahl der Frauen in den verfügbaren Studien vergleichsweise gering, und perimenopausale Frauen sind nicht ausreichend repräsentiert. Zum anderen sind die eingenommenen IF-Mengen und die Zusammensetzung der NEM in diesen Studien nicht immer eindeutig beschrieben oder nicht repräsentativ für die auf dem Markt befindlichen Präparate. Deshalb hat die EFSA Orientierungswerte vorgeschlagen (Tab. 2), deren Anwendbarkeit jedoch auf gesunde Frauen nach der Menopause beschränkt ist, bei denen niemals ein estrogenabhängiger Brust- oder Gebärmutterkrebs diagnostiziert wurde [1]. Insofern schließt die EFSA Bewertung auch nicht den Fall eines möglichen Risikos für Personen mit nicht entdeckten Erkrankungen (v. a. estrogensensitive Tumoren in einem sehr frühen Stadium) ein.

## Problematik der Untersuchung von Isoflavonen und Brustkrebs

Eine mögliche Erhöhung des Brustkrebsrisikos postmenopausaler Frauen durch die Einnahme von IF-NEM wird in

der Wissenschaft besonders kontrovers diskutiert und auch in der Öffentlichkeit wahrgenommen. Für diese Kontroverse gibt es verschiedene Gründe, a) die mangelhafte Unterscheidung zwischen biologischen Konsequenzen einer zeitlich begrenzten Aufnahme von IF-NEM zu bestimmten Lebensphasen und einer chronisch lebenslänglichen Aufnahme als Nahrungsmittelbestandteil, b) die fehlende Berücksichtigung der Bedeutung des biologischen Entwicklungsstadiums/des biologischen Alters zum Zeitpunkt der Einnahme bzw. der Exposition, c) die eingeschränkte Übertragbarkeit der Ergebnisse aus Studien mit Zellkultur- und Tiermodellen auf den Menschen.

### **Isoflavone als Nahrungsergänzungsmittel sowie als Nahrungsmittelbestandteil**

Die zeitlich begrenzte Aufnahme von IF-NEM in bestimmten Lebensphasen (wie den Wechseljahren) und die chronisch lebenslängliche Aufnahme von IF als Nahrungsmittelbestandteil sind hinsichtlich des biologischen Effekts getrennt zu bewerten. Auch bei der Betrachtung eines möglichen Einflusses auf das Brustkrebsrisiko durch IF spielen die Qualität der Exposition, IF-NEM versus IF-haltige Lebensmittel und die Dauer einer IF-NEM-Einnahme bzw. einer sojareichen Ernährungsweise, wohl eine wichtige Rolle. Dieser Aspekt wird auch in der aktuellen Stellungnahme der EFSA nachhaltig aufgegriffen (siehe Abschnitt *Aktuelle EFSA-Stellungnahme*) [1].

Eine inverse Korrelation zwischen der lebenslangen Aufnahme von IF in Form einer sojareichen Ernährung und dem Risiko für Brustkrebs wurde in mehreren epidemiologischen Studien im asiatischen Raum, sowohl für prä- als auch für postmenopausale Frauen, beschrieben [34–36]. Ebenfalls konnte in einer zusammenfassenden Auswertung von drei prospektiven Studien ein inverser Zusammenhang zwischen einer sojareichen Ernährungsweise und dem Risiko des Wiederauftretens von Brustkrebs hergestellt werden [37]. Die entscheidende Frage ist, ob sich dieser präventive Effekt im Fall bereits existierender Primärtumoren umkehren könnte. Nur eine einzige Stu-

die liegt bis dato hierzu vor: 70 Frauen mit primärem Befund für ein Mammakarzinom wurden präoperativ mit Sojaproteinisolat (mind. 7 Tage, 114 mg IF/Tag) supplementiert und die RNA aus dem Brustdrüsengewebe nach chirurgischem Eingriff einer Microarray-Analyse unterzogen. Diese zeigte bei den IF-exponierten Patientinnen im Vergleich zur Kontrollgruppe eine Genexpressionssignatur, die in Richtung einer Förderung der Proliferationsaktivität interpretiert werden kann. Allerdings zeigte der anerkannte Proliferationsmarker Ki67 keine signifikante Veränderung [38]. Die Aussagekraft der Studie ist durch die sehr kleine Probandenzahl, in der die Microarray-Analysen durchgeführt werden konnten, zusätzlich limitiert. Neben der Wirkung von IF auf existente Primärtumoren ist auch wenig über die Konsequenzen einer Einnahme von IF-NEM durch postmenopausale Brustkrebspatientinnen unter Therapie mit Antiöstrogenen oder Aromataseinhibitoren bekannt.

### **Entwicklungsstadium**

Für die Bewertung eines möglichen Brustkrebsrisikos durch Soja-IF besitzt das biologische Entwicklungsstadium d.h. das biologische Alter zum Zeitpunkt der Einnahme und damit der Exposition, in zweierlei Hinsicht eine wesentliche Bedeutung. Die Entstehung von Tumoren gilt als Prozess, der in die definierten zeitlichen Stadien der Initiation, Promotion und Progression eingeteilt werden kann. Hinweise auf eine Beeinflussung von Initiation und Progression durch IF liefern Befunde im Modell des E2-induzierten Mammakarzinoms (ACI-Ratte). Unter IF-supplementiertem Futter entstanden signifikant weniger Tumore, diese wenigen traten aber früher auf und waren größer [39]. Auch für die Brustkrebsprävention scheinen entwicklungsbiologische Gesichtspunkte eine Rolle zu spielen. Die Beeinflussung des Brustkrebsrisikos durch Umweltfaktoren generell und im speziellen Fall durch IF aus der Nahrung oder als IF-NEM, scheint nicht gleichmäßig alle Lebensphasen des weiblichen Organismus zu betreffen, sondern ist ausgeprägt in besonders empfindlichen Phasen („*windows of susceptibility*“) der

Entwicklung der Brustdrüse [40]. Diese Phasen umfassen ein Zeitfenster in der späten fötalen Phase (Anlage der Brustdrüse), den Zeitraum der Pubertät (Wachstum der Milchgänge) und die Involutionsphase nach dem Abstillen (Gewebeumbau). Gerade diese entwicklungsbiologisch kritischen Zeiträume scheinen in einem Zusammenhang mit der Entscheidung über ein höheres oder niedrigeres Brustkrebsrisiko zu stehen. Veränderungen des Epigenoms, induziert durch IF, könnten die mechanistische Grundlage bilden [41].

### **Übertragbarkeit von In-vitro- und Tiermodellen auf den Menschen**

Zellkulturmodelle zeichnen sich durch eine hohe Standardisierung und eine sehr gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse aus. Komplexe Mechanismen, die die Aufnahme, die Verteilung, die Verstoffwechslung und Ausscheidung von Stoffen wie z. B. IF steuern, sind in Zellkultur jedoch nicht oder nur sehr eingeschränkt darstellbar.

Das ideale Tiermodell sollte die Erkrankung des Menschen modellieren. Dieser hohen Anforderung kann kein Tiermodell gerecht werden, was eine generelle Einschränkung darstellt. Die Tiermodelle, die, unter anderen auch von der EFSA [1], als relevant für Frauen nach der Menopause angesehen werden, sind angelehnt an den uterotrophen Assay (siehe Abschnitt *Isoflavone und Östrogenrezeptoren*) mit kastrierten (ovariektomierten) weiblichen Nagetieren [18]. In diesen Modellen wurden biologische Effekte beobachtet, die sicherheitsrelevant sind, wie z. B. die Steigerung der Zellteilungsrate im Epithel von Brust und Gebärmutter. Diese Effekte wurden im Menschen nicht beobachtet und werfen deshalb die Frage der Übertragbarkeit von Ergebnissen aus Tiermodellen auf den Menschen auf. Bei der Frau im Klimakterium erfolgt die Senkung des E2-Spiegels graduell, bei der chirurgischen Entfernung der Eierstöcke im jung adulten Tier hingegen abrupt. Die postmenopausale Frau besitzt nachweisbare E2-Spiegel aus extragonadalen Quellen, z. B. aus dem Fettgewebe, was bei der jungen Ratte nach Kastration nur sehr bedingt der Fall ist. Wäh-

rend sich die postmenopausale Frau in der Regel in einem fortgeschrittenen Lebensalter befindet, werden für den uterotrophen Assay meistens jung adulte Tiere verwendet. Ferner werden die meisten Frauen in ihrem Leben eine oder mehrere Schwangerschaften durchlaufen haben, was sich durch die hohen Hormonspiegel während der Schwangerschaft auf die Ansprechbarkeit auf einen Hormonstimulus, z. B. durch IF-NEM, in späteren Lebensabschnitten auswirkt. Die Verwendung von älteren und pluriparen weiblichen Tieren sollte Probleme der Übertragbarkeit von Daten aus Tierversuchen auf den Menschen bei Menopause-Modellen reduzieren [42]. Eine gravierende Einschränkung der Übertragbarkeit von Ergebnissen zu IF aus Tierexperimenten auf den Menschen ist auch in der speziesspezifischen Metabolisierung von IF (siehe Kapitel *Isoflavone*) zu sehen. In der Konsequenz führt diese zu einer speziesspezifischen Wirkung [10].

Für die Modellierung des Sicherheitsaspekts Brustkrebs gibt es unterschiedlichste tierexperimentelle Ansätze, die hier in Anlehnung an einen Übersichtsartikel von Manning et al. [43] kurz besprochen und hinsichtlich der Limitationen diskutiert werden sollen. Bei genetisch modifizierten Mausmodellen wird die genetische Modifikation in Form einer inaktivierenden oder aktivierenden Mutation eingeführt und die Tumorgenese ausgelöst. Durch diesen monogenen Ansatz wird weder das komplexe Muster genetischer Veränderungen bei der Tumorbildung dargestellt, noch die Vielfalt von Tumor-Subtypen abgebildet. Gerade die Modellierung der Hauptgruppe der Brustdrüsentumore mit ER $\alpha$ -positivem Status scheint schwer darstellbar zu sein [44]. Eine weitere Gruppe, deren Fokus auf das Tumorstromas gerichtet ist, umfasst Xenograftmodelle, die in drei Unterkategorien eingeteilt werden können: Inokulation immortalisierter humaner Tumorzelllinien, humane Tumorexplantate und Übertragung eingeschränkt verfügbarer, syngener Tumorzelllinien der Maus [43]. Die wesentlichen Limitationen für humane Transplantate sind die notwendige Immundefizienz

des Empfängerorganismus Maus und die Veränderung des Tumorstromas, das in diesem Fall Gewebeanteile der Maus repräsentiert.

Die Induktion von Mammakarzinomen mittels chemischer Karzinogene führt in Nagetieren, speziell in der Ratte, meist zur Bildung ER $\alpha$ -positiver Tumoren, was sicherlich der Vorteil dieser Art von Tumormodellen ist. Die Bedeutung dieser Modelle für die Risikobewertung beim Menschen wurde kürzlich evaluiert [45]. Die histopathologische Untersuchung zeigt, dass sich beim Menschen und im experimentellen Modell der hauptsächlich Tumorphänotyp unterscheidet. Während beim Menschen die Mammakarzinome präferenziell einen lobulären Phänotyp aufweisen, besitzen die chemisch induzierten Mammakarzinome, einschließlich der E2-induzierten [39], größtenteils den beim Menschen eher seltenen papillären Phänotyp.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass eine Vielzahl experimenteller In-vitro- und In-vivo-Modelle verfügbar sind. Es gilt aber ebenfalls klar festzuhalten, dass die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die Situation beim Menschen aus den aufgeführten Gründen nur bedingt möglich ist.

### Höchstmengenregelungen für IF in ausgewählten Ländern

Bereits vor dem Erscheinen der EFSA-Stellungnahme haben die nationalen Behörden in Frankreich, Belgien, Italien und der Schweiz Höchstmengen für die Aufnahme von IF festgelegt, die im Bereich von 40 mg/d (Belgien) bis 80 mg/d (Italien) liegen [1]. In Japan wurde die sichere Obergrenze für die Aufnahme von IF mit der Nahrung bei 70–75 mg/d festgelegt [46]. In Deutschland gibt es keine Höchstmenge für IF-NEM, jedoch schließt sich das Bundesinstitut für Risikobewertung der Einschätzung der EFSA sowie den vorgeschlagenen Orientierungswerten inklusive deren Limitierungen an [47].

### Fazit

Positive physiologische Wirkungen von IF-NEM, wie die häufig ausgelobte Lin-

derung von Wechseljahresbeschwerden, konnten bisher wissenschaftlich nicht zweifelsfrei gezeigt werden. Andererseits können unerwünschte Wirkungen gerade für die Hauptzielgruppe der peri- und postmenopausalen Frauen nicht völlig ausgeschlossen werden, da die für die Sicherheitsbewertung zur Verfügung stehenden Daten nicht ausreichend sind. Die EFSA gibt in ihrer jüngsten Stellungnahme erstmals Orientierungswerte für eine als sicher anzunehmende Verwendung von IF-NEM im Hinblick auf Dosis und Einnahmedauer an. Allerdings sollten sowohl Ärzte als auch Frauen beachten, dass diese nur für gesunde Frauen gelten.

### Korrespondenzadresse

**Prof. Dr. S. E. Kulling**

Institut für Sicherheit und Qualität bei Obst und Gemüse, Max Rubner-Institut  
Karlsruhe, Deutschland  
sabine.kulling@mri.bund.de

**Danksagung.** C. Gerhäuser, S. Kulling, L. Lehmann und G. Vollmer danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) für die finanzielle Förderung im Rahmen des Verbundprojektes PAK 634: *IsoCross*, „Isoflavones: Cross-species comparison on metabolism, estrogen sensitivity, epigenetics, and carcinogenesis“ (Fördernummern GE 1049/5-1; KU 1079/9-1; LE 1329/10-1; VO 410/12-1).

### Einhaltung ethischer Richtlinien

**Interessenkonflikt.** L. Lehmann, S.T. Soukup, C. Gerhäuser, G. Vollmer und S.E. Kulling geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Dieser Beitrag beinhaltet keine von den Autoren durchgeführten Studien an Menschen oder Tieren.

### Literatur

1. EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (2015) Risk assessment for peri- and post-menopausal women taking food supplements containing isolated isoflavones. EFSA J 13:4246
2. Nagata C (2010) Factors to consider in the association between soy isoflavone intake and breast cancer risk. J Epidemiol 20:83–89
3. Sitte P, Weiler E, Kadereit J, Bresinsky A, Körner C (2002) *Straßburger – Lehrbuch der Botanik*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg
4. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service – USDA (2008) Database for the Isoflavone Content of Selected Foods. Release 2.0 – 2008, Nutrient Data Laboratory Web



- site. <http://www.ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=6382>. Zugegriffen: 09. Jan 2017
5. Lang K, Lindemann A, Hauser F, Göttfert M (2008) The genistein stimolon of Bradyrhizobium japonicum. *Mol Genet Genomics* 279:203–211
  6. Graham TL, Graham MY, Subramanian S, Yu O (2007) RNAi silencing of genes for elicitation or biosynthesis of 5-Deoxyisoflavonoids suppresses race-specific resistance and hypersensitive cell death in phytophthora sojae infected tissues. *Plant Physiol* 144:728–740
  7. Mortensen A, Kulling SE, Schwartz H et al (2009) Analytical and compositional aspects of isoflavones in food and their biological effects. *Mol Nutr Food Res* 53:5266–5309
  8. Klein MA, Nahin RL, Messina MJ et al (2010) Guidance from an NIH Workshop on designing, implementing, and reporting clinical studies of soy interventions. *J Nutr* 140:1192S–1204S
  9. Hosoda K, Furuta T, Ishii K (2011) Metabolism and disposition of isoflavone conjugated metabolites in humans after ingestion of kinako. *Drug Metab Dispos* 39:1762–1767
  10. Soukup ST, Helppö J, Müller DR et al (2016) Phase II metabolism of the soy isoflavones genistein and daidzein in humans, rats and mice: a cross-species and sex comparison. *Arch Toxicol* 90(6):1335–1347
  11. Kuiper GG, Carlsson B, Grandien K et al (1997) Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology* 138:863–870
  12. Kuiper GGJM, Lemmen JG, Carlsson B et al (1998) Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor  $\beta$ . *Endocrinology* 139:4252–4263
  13. Reiter E, Beck V, Medjakovic S, Mueller M, Jungbauer A (2009) Comparison of hormonal activity of isoflavone-containing supplements used to treat menopausal complaints. *Menopause* 16:1049–1060
  14. Blei T, Soukup ST, Schmalbach K et al (2015) Dose-dependent effects of isoflavone exposure during early lifetime on the rat mammary gland: studies on estrogen sensitivity, isoflavone metabolism, and DNA methylation. *Mol Nutr Food Res* 59:270–283
  15. Kinjo J, Tsuchihashi R, Morito K et al (2004) Interactions of phytoestrogens with estrogen receptors alpha and beta (III). Estrogenic activities of soy isoflavone aglycones and their metabolites isolated from human urine. *Biol Pharm Bull* 27:185–188
  16. Pugazhendhi D, Watson KA, Mills S, Botting N, Pope GS, Darbre PD (2008) Effect of sulphation on the oestrogen agonist activity of the phytoestrogens genistein and daidzein in MCF-7 human breast cancer cells. *J Endocrinol* 197:503–515
  17. Hillisch A, Peters O, Kosemund D et al (2004) Dissecting physiological roles of estrogen receptor alpha and beta with potent selective ligands from structure-based design. *Mol Endocrinol* 18:1599–1609
  18. OECD (2007) Test no. 440: uterotrophic bioassay in rodents. OECD, Paris
  19. Rosner W, Hankinson SE, Sluss PM, Vesper HW, Wierman ME (2013) Challenges to the measurement of estradiol: an endocrine society position statement. *J Clin Endocrinol Metab* 98:1376–1387
  20. Key TJ, Chen J, Wang DY, Pike MC, Boreham J (1990) Sex hormones in women in rural China and in Britain. *Br J Cancer* 62:631–636
  21. Hooper L, Ryder JJ, Kurzer MS et al (2009) 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
  22. Key TJ, Appleby PN, Reeves GK et al (2011) Circulating sex hormones and breast cancer risk factors in postmenopausal women: reanalysis of 13 studies. *Br J Cancer* 105:709–722
  23. The Endogenous Hormones and Breast Cancer Collaborative Group (2002) Endogenous sex hormones and breast cancer in postmenopausal women: reanalysis of nine prospective studies. *J Natl Cancer Inst* 94:606–616
  24. Keinan-Boker L, Peeters P, Mulligan A et al (2002) Soy product consumption in 10 European countries: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *Public Health Nutr* 5:1217–1226
  25. Messina M, Nagata C, Wu AH (2006) Estimated asian adult soy protein and isoflavone intakes. *Nutr Cancer* 55:1–12
  26. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies – NDA (2012) 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 J* 10:2847
  27. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (2010) Scientific opinion on the substantiation of health claims related to pantothenic acid and mental performance (ID 58), reduction of tiredness and fatigue (ID 63), adrenal function (ID 204) and maintenance of normal skin (ID 2878) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA J* 8:1759
  28. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (2009) Scientific opinion on the substantiation of health claims related to vitamin B6 and protein and glycogen metabolism (ID 65, 70, 71), function of the nervous system (ID 66), red blood cell formation (ID 67, 72, 186), function of the immune system (ID 68), regulation of hormonal activity (ID 69) and mental performance (ID 185) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA J* 7:1225
  29. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (2009) Scientific opinion on the substantiation of health claims related to calcium and maintenance of bones and teeth (ID 224, 230, 231, 354, 3099), muscle function and neurotransmission (ID 226, 227, 230, 235), blood coagulation (ID 230, 236), energy-yielding metabolism (ID 234), function of digestive enzymes (ID 355), and maintenance of normal blood pressure (ID 225, 385, 1419) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA J* 7:1210
  30. Rüfer CE, Bub A, Moseneder J, Winterhalter P, Sturtz M, Kulling SE (2008) Pharmacokinetics of the soybean isoflavone daidzein in its aglycone and glucoside form: a randomized, double-blind, crossover study. *Am J Clin Nutr* 87:1314–1323
  31. Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment (2003) Phytoestrogens and health. <http://cot.food.gov.uk/sites/default/files/cot/phythereport0503.pdf>. Zugegriffen: 14 Aug 2016
  32. DFG-Senatskommission zur gesundheitlichen Bewertung von Lebensmitteln (2006) Isoflavone als Phytoestrogene in Nahrungsergänzungsmitteln und diätetischen Lebensmitteln für besondere medizinische Zwecke
  33. Bundesinstitut für Risikobewertung (2007) Isolierte Isoflavone sind nicht ohne Risiko. Aktualisierte Stellungnahme Nr. 039/2007 des BfR. [http://www.bfr.bund.de/cm/343/isolierte\\_isoflavone\\_sind\\_nicht\\_ohne\\_risiko.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/343/isolierte_isoflavone_sind_nicht_ohne_risiko.pdf) (Erstellt: 29 Okt 2007). Zugegriffen: 14 Aug 2016
  34. Lee S-A, Shu X-O, Li H et al (2009) Adolescent and adult soy food intake and breast cancer risk: results from the Shanghai Women's Health Study. *Am J Clin Nutr* 89:1920–1926
  35. Nagata C, Mizoue T, Tanaka K et al (2014) Soy intake and breast cancer risk: an evaluation based on a systematic review of epidemiologic evidence among the Japanese population. *Jpn J Clin Oncol* 44:282–295
  36. Shu X, Zheng Y, Cai H et al (2009) Soy food intake and breast cancer survival. *JAMA* 302:2437–2443
  37. Nechuta SJ, Caan BJ, Chen WY et al (2012) Soy food intake after diagnosis of breast cancer and survival: an in-depth analysis of combined evidence from cohort studies of US and Chinese women. *Am J Clin Nutr* 96:123–132
  38. Shike M, Doane AS, Russo L et al (2014) The effects of soy supplementation on gene expression in breast cancer: a randomized placebo-controlled study. *J Natl Cancer Inst* 106(9):dju189
  39. Möller FJ, Pemp D, Soukup ST et al (2016) Soy isoflavone exposure through all life stages accelerates 17 $\beta$ -estradiol-induced mammary tumor onset and growth, yet reduces tumor burden, in ACI rats. *Arch Toxicol* 90(8):1907–1916
  40. Martinson HA, Lyons TR, Giles ED, Borges VF, Schedin P (2013) Developmental windows of breast cancer risk provide opportunities for targeted chemoprevention. *Exp Cell Res* 319:1671–1678
  41. Pudenz M, Roth K, Gerhauser C (2014) Impact of soy isoflavones on the epigenome in cancer prevention. *Nutrients* 6:4218–4272
  42. Keiler AM, Bernhardt R, Scharnweber D, Jarry H, Vollmer G, Zierau O (2013) Comparison of estrogenic responses in bone and uterus depending on the parity status in Lewis rats. *J Steroid Biochem Mol Biol* 133:101–109
  43. Manning HC, Buck JR, Cook RS (2016) Mouse models of breast cancer: platforms for discovering precision imaging diagnostics and future cancer medicine. *J Nucl Med* 57:60S–68S
  44. Dabydeen SA, Furth PA (2014) Genetically engineered ER $\alpha$ -positive breast cancer mouse models. *Endocr Relat Cancer* 21:R195–R208
  45. Russo J (2015) Significance of rat mammary tumors for human risk assessment. *Toxicol Pathol* 43:145–170
  46. Novel Foods Expert Committee of the Food Safety Commission (2006) Fundamental concepts in the safety assessment of foods containing soy Isoflavones for the purpose of specified health use. Cabinet office, government of japan food safety commission (original: Japanese, provisional translation). [https://www.fsc.go.jp/english/evaluationreports/newfoods\\_sphelth/soy\\_isoflavones.pdf](https://www.fsc.go.jp/english/evaluationreports/newfoods_sphelth/soy_isoflavones.pdf). Zugegriffen: 09 Jan 2017
  47. Bundesinstitut für Risikobewertung (2015) Nahrungsergänzungsmittel mit isolierten Isoflavonen: Bei Einnahme in und nach den Wechseljahren Orientierungswerte für Dosierung und Anwendungsdauer einhalten. Mitteilung Nr. 043/2015 des BfR vom 16. November 2015. <http://www.bfr.bund.de/cm/343/nahrungsergaenzungsmittel-mit-isolierten-isoflavonen-bei-einnahme-in-und-nach-den-wechseljahren-orientierungswerte-fuer-dosierung-und-anwendungsdauer-einhalten.pdf>. Zugegriffen: 29 Jul 2016