

## مقایسه اثر عصاره گیاه پنج‌انگشت و مریم‌گلی در برخی از فاکتورهای استئوژنیک در زنان یائسه یک مطالعه کارآزمایی بالینی سه‌سوکور افسانه زیدآبادی<sup>۱</sup>، دکتر محمد حسین دباغ‌منش<sup>۲</sup>، دکتر محمدرضا ساسانی<sup>۳</sup>، دکتر معصومه امام‌قریشی<sup>۴</sup>، مرضیه اکبرزاده<sup>۵\*</sup>

۱. مربی گروه مامایی، مرکز تحقیقات بهداشت روان جامعه‌نگر، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.
۲. استاد گروه اندوکرینولوژی، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.
۳. استادیار گروه رادیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.
۴. استاد گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.
۵. استادیار گروه مامایی، مرکز تحقیقات مادر و جنین، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۰۶

### خلاصه

**مقدمه:** از دست رفتن سریع استخوان بعد از یائسگی تا حدودی به علت تشکیل رادیکال‌های آزاد است و ترکیبات فنلی برخی گیاهان باعث از بین رفتن این رادیکال‌های آزاد شده و به احتمال زیاد تخریب استخوان را سرکوب می‌کند. مطالعه حاضر با هدف مقایسه اثر عصاره گیاه پنج‌انگشت و مریم‌گلی در برخی فاکتورهای استئوژنیک در زنان یائسه انجام شد.

**روش کار:** این مطالعه کارآزمایی بالینی تصادفی سه‌سوکور در سال ۱۳۹۴ بر روی ۹۹ نفر از زنان یائسه مراجعه‌کننده به مرکز سنجش تراکم استخوان انجام شد. افراد به‌طور تصادفی به سه گروه دریافت عصاره گیاه پنج‌انگشت، قرص مریم‌گلی و پلاسبو تقسیم شدند و مداخله به مدت ۳ ماه انجام شد. آزمایشات مربوط به فاکتورهای استئوژنیک (آلکالین فسفاتاز، استئوکلسین، تلوپیتید-C (CTX)، قبل و بعد از مداخله انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۶) و آزمون‌های کای اسکوئر، تحلیل واریانس، تی جفتی و تعقیبی LSD انجام شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** میانگین آلکالین فسفاتاز، استئوکلسین و تلوپیتید-C بعد از مداخله در مقایسه با قبل از مداخله در گروه مریم‌گلی و پنج‌انگشت کاهش داشت ( $p < 0/001$ ). بر اساس نتایج آزمون تعقیبی LSD، تفاوت میانگین نمره آلکالین فسفاتاز ( $p < 0/05$ )، استئوکلسین و تلوپیتید-C بین گروه پنج‌انگشت و مریم‌گلی با گروه کنترل بعد از مداخله تفاوت آماری معناداری داشت ( $p < 0/05$ )، ولی تفاوت میانگین نمره تلوپیتید-C بین گروه پنج‌انگشت و مریم‌گلی بعد از مداخله از لحاظ آماری معنادار نبود ( $p = 0/118$ ).

**نتیجه‌گیری:** عصاره گیاه پنج‌انگشت و مریم‌گلی پس از مداخله در کاهش برخی فاکتورهای استئوژنیک نظیر آلکالین فسفاتاز، استئوکلسین و تلوپیتید-C مؤثر بود.

**کلمات کلیدی:** پنج‌انگشت، فاکتورهای استئوژنیک، مرکز سنجش تراکم استخوان، مریم‌گلی، یائسه

\* نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر مرضیه اکبرزاده؛ مرکز تحقیقات مادر و جنین، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران. تلفن:

۰۷۱۱-۶۴۷۴۲۵۴، پست الکترونیکی: akbarzadm@sums.ac.ir

## مقدمه

یائسگی طبیعی طبق تعریف سازمان جهانی بهداشت عبارت است از قطع عادت ماهیانه در زنان که به دلیل توقف فاز فولیکولار تخمدان روی می‌دهد و به پایان یافتن دوران باروری در زن می‌انجامد (۱). سالانه حدود ۲۵ میلیون زن در جهان یائسه می‌شوند (۲). در بررسی‌های انجام شده در آمریکا جمعیت زنان ۴۵-۵۴ سال ۱۴/۴٪ از کل جمعیت را تشکیل داده است و در ایران طبق سرشماری سال ۱۳۹۰، جمعیت زنان ۴۵-۶۰ ساله، ۵۹۸۴۶۸۳ نفر برآورد گردید که حدود ۷٪ افراد جامعه را تشکیل می‌دهد (۳). نتایج مطالعه گلشیری و همکاران (۲۰۱۶) در ایران نشان داد سن یائسگی  $48/66 \pm 3/79$  سال بود که تقریباً مشابه تخمین‌های قبلی گزارش شده برای سایر جمعیت ایران است و عواملی نظیر سن در زمان ازدواج، تعداد بیشتر بارداری و وضعیت اقتصادی پایین‌تر، از عوامل مهم در رابطه با سن در یائسگی بودند (۴).

به‌دنبال یائسگی علائمی مانند اختلال در الگوی قاعدگی، بی‌ثباتی وازوموتور<sup>۱</sup>، آتروفی دستگاه تناسلی، خارش، اورتریت<sup>۲</sup>، سیستیت باکتریال و بی‌اختیاری ادراری، اختلال عملکرد جنسی، اختلالات خواب، اختلال در حافظه و یادگیری، اضطراب و افسردگی ایجاد می‌شود و در طولانی‌مدت ممکن است مشکلاتی ناشی از محرومیت استروژن مانند بیماری‌های قلبی-عروقی و استئوپروز به‌وجود آید (۱، ۷-۵).

پوکی استخوان به کاهش تراکم مواد معدنی استخوانی ناشی از شکست متابولیسم استخوان و تشکیل استخوان اطلاق می‌گردد. شرایط مختلف پاتوفیزیولوژیک غیر از یائسگی یا پیری در توسعه پوکی استخوان دخیل هستند (۸).

شایع‌ترین تظاهرات بالینی استئوپروز، شکستگی‌های لگن و مهره‌ها و یا مچ دست هستند. شکستگی‌های ناشی از پوکی استخوان مسئول مرگ‌ومیر و عوارض، درد مزمن، کاهش کیفیت زندگی و ورود به مراقبت طولانی‌مدت و هزینه‌های مراقبت بهداشتی و اجتماعی می‌باشند.

پیشگیری از شکست یکی از اولویت‌های بهداشت عمومی در سراسر جهان است (۹). شیوع استئوپروز در نژادهای مختلف متفاوت است (۱۰). شیوع این بیماری در کشورهای اتحادیه اروپا ۲۱٪، در چین ۱۵/۷٪ و در ایالات متحده در زنان بیشتر از ۵۰ سال ۲۰٪ گزارش شده است (۱۰، ۱۱). در ایران بر اساس مطالعه اسلامیان در زنان ۶۹-۶۰ ساله ۳۲/۴٪ در ستون فقرات کمری و ۵/۹٪ در استخوان فمور بوده است و طبق این گزارش اگرچه حداکثر توده استخوانی در جامعه بالغین ایران از جمعیت اروپایی و آمریکایی کمتر است، ولی میزان تحلیل استخوانی در هر دو جامعه غربی و ایرانی برابر است (۱۲). زنان بعد از یائسگی بیشترین خطر ابتلاء به استئوپروز را دارند. در واقع اگرچه استئوپروز یک بیماری چندعاملی است، اما اغلب کمبود هورمون‌های جنسی به‌ویژه کمبود استروژن در زنان یائسه عامل آن است (۱۳). در واقع با شروع یائسگی سرعت کاهش تراکم استخوان در زنان چند برابر افزایش می‌یابد، زیرا به‌دنبال فقدان فعالیت تخمدان و کاهش استروژن، فعالیت استئوکلاست‌ها تشدید (۱۴) و میزان بقاء استئوکلاست‌ها بیش از استئوبلاست‌ها<sup>۳</sup> می‌شود. یکی از عملکردهای استروژن در سلامت استخوان، تعادل بین عملکرد استئوبلاست‌ها و استئوکلاست‌ها است (۱۵). از سوی دیگر با کاهش استروژن، جذب کلسیم از روده‌ها کاهش، تولید رادیکال‌های آزاد افزایش (۱۶) و بازسازی استخوان تسریع می‌یابد و باعث عدم تعادل در تشکیل و تخریب استخوان می‌شود. از دست دادن استخوان ناشی از این عدم تعادل در ناحیه تراپکولار استخوان سریع‌تر از قشر استخوان است (۱۷)؛ به‌طوری‌که در ۱۰-۵ سال اول یائسگی، ۲۵-۳۰٪ استخوان‌های تراپکولار و ۱۵-۱۰٪ استخوان کورتیکال (قشری) در زنان از دست می‌روند (۱۴).

میزان تغییرات سنجش تراکم استخوان (BMD)<sup>۴</sup> در پاسخ به درمان بسیار کند است؛ به‌طوری‌که حداقل یک‌سال درمان لازم است تا تغییر مهمی در میزان سنجش تراکم استخوان ایجاد شود، اما چند آنالیت<sup>۵</sup>

<sup>3</sup> Osteoblast

<sup>4</sup> Bone Mineral density

<sup>5</sup> Analyte

<sup>1</sup> Vasomotor

<sup>2</sup> Urethritis

به راحتی در سرم یا ادرار قابل اندازه گیری است که منعکس کننده سرعت تشکیل استخوان یا تحلیل استخوان است. این مارکهای استخوان، مارکهای بازگردش استخوان<sup>۱</sup> نامیده می شوند (۱۶). اعتقاد بر این است که مارکهای استخوانی به بهبود تشخیص پوکی استخوان کمک می کنند (۱۸). مارکهای بازگردش استخوان شامل فاکتورهای تشکیل، از جمله: آلکالین فسفاتاز<sup>۲</sup>، استئوکلسین<sup>۳</sup>، سیالوپروتئین استخوان<sup>۴</sup> و ...، فاکتورهای تخریب، از جمله: اسیدفسفاتاز مقاوم به تارتارات<sup>۵</sup>، هیدروکسی پرولین<sup>۶</sup> و تلوپپتیدهای کراس لینک<sup>۷</sup> مانند تلوپپتید<sup>۸</sup> C<sup>۸</sup> و تلوپپتید<sup>۹</sup> N<sup>۹</sup> و ... می باشند (۱۹).

کاهش علائم یائسگی و افزایش کیفیت زندگی، دلیل عمده ای برای شروع هورمون درمانی در زنان مطرح شده است (۲۰). درمان استاندارد طلایی برای پیشگیری از پوکی استخوان در زنان یائسه استروژن است (۲۱). در مطالعه رحیمی کیان و همکاران (۲۰۰۲) در ایران نیز فقط ۸/۷۵٪ زنان یائسه از هورمون درمانی استفاده کرده بودند (۲۲). در بین درمان های جایگزین و غیرهورمونی، گیاه درمانی و در بین گیاهان، گیاهان فیتواستروژنی<sup>۱۰</sup> (حاوی ترکیبات شبه استروژن) جایگاه خاصی دارند و جهت درمان علائم یائسگی توصیه شده اند (۲۳).

گیاهانی مانند سنبل الطیب<sup>۱۱</sup>، کوهوش سیاه<sup>۱۲</sup>، بابونه<sup>۱۳</sup>، علف چای<sup>۱۴</sup>، شیرین بیان<sup>۱۵</sup>، رازیانه<sup>۱۶</sup>، سویا<sup>۱۷</sup>، شبدر قرمز<sup>۱۸</sup>، پنج انگشت<sup>۱۹</sup> و مریم گلی<sup>۲۰</sup> خاصیت

فیتواستروژنی دارند و جهت درمان علائم یائسگی توصیه شده اند و مطالعه اثرات فیتواستروژن ها اکنون به یک منطقه فعال active area برای تحقیق تبدیل شده است (۱۶، ۲۴، ۲۵). از طرف دیگر، نتایج مطالعات در حیوانات و انسان بحث برانگیز است، برخی منابع معتقدند که فیتواستروژن ها مؤثر و ایمن هستند، نویسندگان دیگر ادعا می کنند که در منوپوز بی اثر هستند یا خواص خاصی دارند و نمی توانند برای همه توصیه شوند. مهم است که به خاطر سلامت، سلامت روان و ایمنی زنان به این مسئله توجه شود (۲۶).

لذا با توجه به اینکه مطالعه ای راجع به اثر گیاهان پنج انگشت و مریم گلی در پیشگیری از پوکی استخوان در زنان یائسه به صورت مقایسه ای در ایران انجام نشده و پژوهش های مربوط به اثر این دو گیاه بر روی علائم جسمی و روانی اندک است و با توجه به توصیه های سازمان جهانی بهداشت در مورد توجه به طب مکمل، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر گیاه پنج انگشت و مریم گلی در برخی فاکتورهای استئوژنیک (آلکالین فسفاتاز، استئوکلسین، تلوپپتید-C (CTX)، زنان یائسه مراجعه کننده به مرکز سنجش تراکم استخوان بیمارستان نمازی شیراز انجام شد.

## روش کار

این مطالعه کارآزمایی بالینی تصادفی و سه سوکور از اردیبهشت تا تیر ماه ۱۳۹۴ بر روی ۹۹ نفر از زنان یائسه مراجعه کننده به مرکز سنجش تراکم استخوان بیمارستان نمازی شیراز که شرایط ورود به مطالعه را داشتند، انجام شد.

حجم نمونه با استفاده از مطالعه فیلیپ و همکاران (۲۰۱۵) و با توجه به فرمول مقایسه میانگین ها و تعمیم آن به سه گروه و با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵٪ و توان آزمون ۸/۰، ۳۱ نفر برای هر گروه برآورد گردید (۲۷). در انتها با احتمال ریزش ۵٪، ۹۹ نفر وارد مطالعه شدند و ۸۹ نفر آنها مطالعه را به پایان رساندند؛ به طوری که ۳۱ نفر در گروه مریم گلی، ۳۰ نفر در گروه پنج انگشت و ۲۸ نفر در گروه پلاسبو قرار گرفتند. روش نمونه گیری آسان مبتنی بر هدف بود. روش

<sup>1</sup> Bone Turnover Markers (BTMs)

<sup>2</sup> Alkaline phosphatase

<sup>3</sup> Osteocalcin

<sup>4</sup> Bone Sialoprotein

<sup>5</sup> Tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP)

<sup>6</sup> Hydroxyprolin

<sup>7</sup> Cross-linked telopeptides

<sup>8</sup> Type I collagen crosslinked C-telopeptide

<sup>9</sup> Type I collagen crosslinked N-telopeptide

<sup>10</sup> Phytoestrogen

<sup>11</sup> Valerian

<sup>12</sup> Black cohosh

<sup>13</sup> Chamomile

<sup>14</sup> Hypericum perforatum

<sup>15</sup> Licorice

<sup>16</sup> Anise

<sup>17</sup> Soy

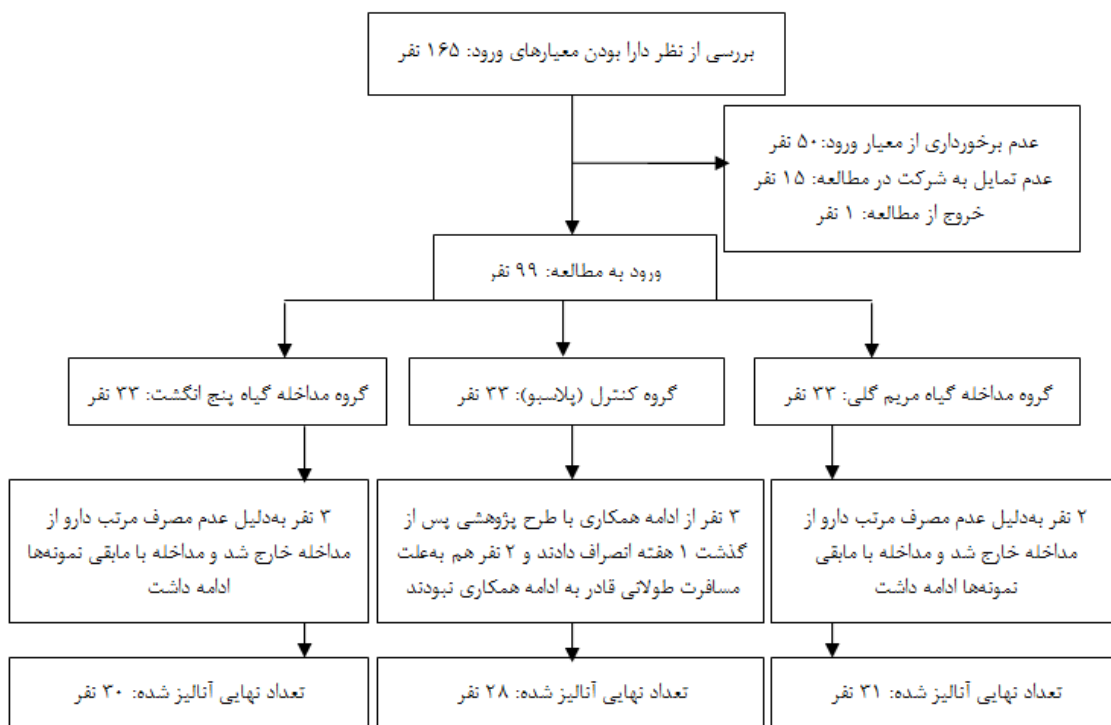
<sup>18</sup> Red clover

<sup>19</sup> Vitex Agnus castus

<sup>20</sup> Salvia officinalis or Sage

تیروئید، پاراتیروئید، روده، استخوان که داروهای خاص مؤثر بر تراکم استخوان دریافت می‌کنند، عدم مصرف هرگونه داروی هورمونی، زنان یائسه‌ای که مکمل کلسیم و ویتامین D دریافت می‌کردند، زنانی که استئوپنیکی بودند، ولی تحت درمان داروهای استئوپنیکی نبودند و عدم حساسیت به داروهای گیاهی بود. معیارهای خروج از مطالعه شامل: واکنش آلرژیک به دارو و تشخیص بیماری حین مطالعه که نیاز به استفاده از داروهای مؤثر بر تراکم استخوان است.

تصادفی‌سازی به روش جایگشت بلوکی بود که افراد به سه گروه A، B، C تقسیم شد و هر یک از حروف به تصادف به گروه پنج‌انگشت، مریم‌گلی و پلاسبو تعلق گرفت، سپس این حروف به ۶ صورت (ABC، ACB، BAC، BCA، CAB، CBA) دسته‌بندی شدند. ثبت‌نام شرکت‌کنندگان و تخصیص تصادفی‌سازی توسط پژوهشگر انجام شد. معیارهای ورود به مطالعه شامل: زنان یائسه با اخذ رضایت‌نامه کتبی، فقدان بیماری‌هایی از قبیل کبد، کلیه،



نمودار ۱- فلوجارت نمونه‌گیری، تصادفی‌سازی و تحلیل نمونه‌ها

اول روزانه یک عدد قرص ۳/۲-۴/۸ میلی‌گرمی پنج‌انگشت، به گروه مداخله دوم روزانه ۳ عدد قرص ۱۰۰ میلی‌گرمی مریم‌گلی و به گروه سوم روزانه ۳ عدد قرص پلاسبو به مدت ۳ ماه داده شد (عصاره گیاه پنج‌انگشت به صورت قرص پنج‌انگشت و عصاره گیاه مریم‌گلی به صورت قرص مریم‌گلی توسط شرکت داروسازی گل دارو Goldaru در ایران ساخته شد (در دانشکده داروسازی شیراز قرص پلاسبو ساخته شد) و بعد از ۳ ماه دوباره آزمایشات ذکر شده انجام شد. نتایج

بعد از اخذ معرفی‌نامه، در ابتدا نمونه‌های پژوهش از بین مراجعین به این مرکز سنجش تراکم استخوان در صورت تمایل و داشتن شرایط ورود به مطالعه به صورت تصادفی در سه گروه قرص پنج‌انگشت، قرص مریم‌گلی و پلاسبو قرار گرفتند. سپس جهت انجام مداخله فرم رضایت‌نامه کتبی، فرم اطلاعات شخصی را تکمیل کردند و جهت انجام آزمایشات مربوط به فاکتورهای استئوپنیکی (آلکالین فسفاتاز، استئوکلسین، تلوپیتید-C (CTX) به آزمایشگاه معرفی شدند. به گروه مداخله

توسط متخصص آمار مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سه سوکورسازی در این مطالعه هم از سوی بیمار، هم از سوی پژوهشگر و هم از سوی استاد آمار جهت تجزیه و تحلیل بود؛ به این صورت که فرم دارویی در سه گروه به شکل قرص بود و سائز قرص‌ها با هم کمی تفاوت داشت و از طرفی کارشناس داروساز نیز قرص‌ها را در بسته‌های سیاه‌رنگ قرار داده بود؛ به طوری که مشخص نبود که هر پاکت محتوی چه نوع قرصی است و فقط با کد A و B و C مشخص شده بود. مشاور آمار نیز از جزئیات گروه‌بندی داده‌ها کاملاً بی‌اطلاع بود.

داده‌ها پس از گردآوری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۶) و آزمون‌های کای اسکوئر، تحلیل واریانس و آزمون تی جفتی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و در صورت معناداری آزمون تحلیل واریانس، از آزمون تعقیبی LSD استفاده شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

از نظر ملاحظات اخلاقی، این پژوهش پس از اخذ تأییدیه از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شیراز با شماره مجوز IR.SUMS.REC.1394.185 مورخ ۱۳۹۴/۱۱/۰۴ و همچنین بعد از ثبت در سایت کارآزمایی بالینی ایران با شماره کد 2015111713940N2 انجام شد. زنان یائسه مراجعه‌کننده به این بیمارستان در صورت تمایل به

همکاری و داشتن شرایط ورود به مطالعه و بعد از کسب رضایت آگاهانه از آنها وارد مطالعه شدند و در صورت عدم تمایل به ادامه مداخله از مطالعه حذف شدند.

## یافته‌ها

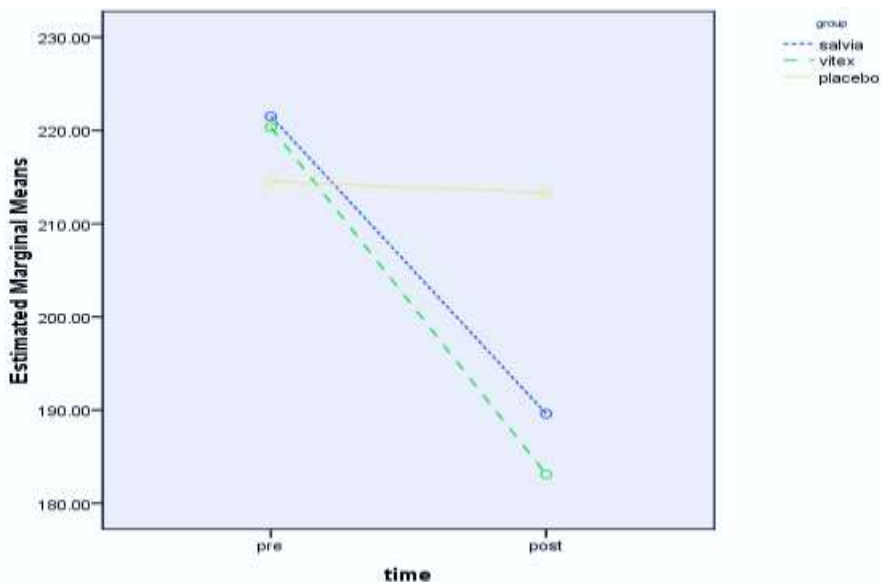
میانگین سن زنان در گروه پنج‌انگشت ۵۵/۶±۴/۲ سال، در گروه مریم‌گلی ۵۵/۶±۳/۷ سال و در گروه پلاسبو ۵۶/۳±۳ سال بود و سه گروه از لحاظ سن، سن یائسگی، مدت زمان یائسگی، شاخص توده بدنی و طول مدت ازدواج تفاوت معناداری نداشتند ( $p > 0/05$ ).

بر اساس نتایج آزمون تی جفتی، میانگین آلکالین فسفاتاز بعد از مداخله در مقایسه با قبل از مداخله در گروه مریم‌گلی و پنج‌انگشت به ترتیب ۳۱/۸۹±۷/۳ و ۳۷/۲±۱۸/۷ واحد کاهش داشت که این کاهش آلکالین فسفاتاز از نظر آماری معنادار بود ( $p < 0/001$ ). همچنین بر اساس نتایج آزمون آنالیز واریانس، میانگین آلکالین فسفاتاز بعد از مداخله در سه گروه متفاوت بود ( $p = 0/048$ ) که بر اساس نتایج آزمون تعقیبی LSD، تفاوت میانگین نمره آلکالین فسفاتاز بین گروه پنج‌انگشت و کنترل ( $p = 0/019$ ) و بین گروه مریم‌گلی و کنترل بعد از مداخله تفاوت آماری معناداری داشت ( $p = 0/042$ ) (جدول ۱، نمودار ۲).

جدول ۱- مقایسه میانگین آلکالین فسفاتاز سرم قبل و بعد از مداخله در سه گروه مورد مطالعه

سطح	گروه کنترل	گروه عصاره پنج انگشت	گروه عصاره مریم‌گلی	آلکالین فسفاتاز (IU/L)
معنی‌داری**	انحراف معیار±میانگین	انحراف معیار±میانگین	انحراف معیار±میانگین	
قبل از مداخله	۲۱۴/۵±۶۱/۶	۲۲۰/۳±۶۰/۴	۲۲۱/۵±۵۶/۲	
بعد از مداخله	۲۱۳/۳±۵۳/۲	۱۸۳/۱±۴۱/۷	۱۸۹/۶±۴۸/۹	
تغییرات	۱/۲±۸/۴	۳۷/۲±۱۸/۷	۳۱/۸۹±۷/۳	
سطح معنی‌داری*	۰/۷۹۴	>۰/۰۰۱	>۰/۰۰۱	

\* تی تست جفتی، \*\* آنوا یک‌طرفه



نمودار ۲- مقایسه سطح آلکالین فسفاتاز سرم قبل و بعد از مداخله در گروه عصاره پنج‌انگشت و مریم‌گلی با گروه کنترل

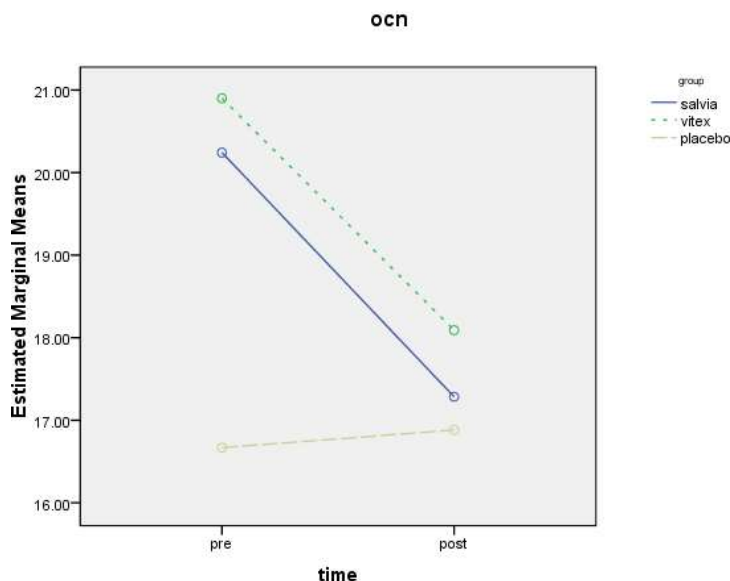
استئوکلسین بین گروه مریم‌گلی و کنترل بعد از مداخله ( $p=0/017$ ) و گروه پنج‌انگشت و کنترل بعد از مداخله ( $p=0/026$ ) اختلاف داشت که از نظر آماری معنادار بود، اما تفاوت میانگین نمره استئوکلسین بین گروه پنج‌انگشت و مریم‌گلی بعد از مداخله از نظر آماری معنادار نبود ( $p=0/875$ ) (جدول ۲، نمودار ۳).

میانگین استئوکلسین سرم بعد از مداخله در مقایسه با قبل از مداخله در گروه مریم‌گلی و پنج‌انگشت به ترتیب  $4/1 \pm 2/0$  و  $5 \pm 2/9$  واحد کاهش داشت که این کاهش از نظر آماری معنادار بود ( $p < 0/001$ ). همچنین میانگین استئوکلسین قبل و بعد از مداخله در سه گروه متفاوت و معنی‌دار بود ( $p=0/03$ ) که بر اساس نتایج آزمون تعقیبی LSD، تفاوت میانگین نمره

جدول ۲- مقایسه میانگین استئوکلسین سرم قبل و بعد از مداخله در سه گروه مورد مطالعه

سطح	گروه کنترل	گروه عصاره پنج‌انگشت	گروه عصاره مریم‌گلی	استئوکلسین (نانوگرم بر میلی‌لیتر)
معنی‌داری**	انحراف معیار $\pm$ میانگین	انحراف معیار $\pm$ میانگین	انحراف معیار $\pm$ میانگین	
قبل از مداخله	$16/7 \pm 6/4$	$20/9 \pm 8/2$	$20/2 \pm 6/8$	
بعد از مداخله	$16/9 \pm 6/4$	$15/9 \pm 5/3$	$16/1 \pm 4/8$	
تغییرات	$-0/2 \pm 0$	$5 \pm 2/9$	$4/1 \pm 2/0$	
سطح معنی‌داری*	$0/116$	$>0/001$	$>0/001$	

\* تی تست جفتی، \*\* آنوا یک‌طرفه



نمودار ۳- مقایسه سطح استئوکلسین سرم، قبل و بعد از مداخله در گروه عصاره پنج‌انگشت و مریم‌گلی با گروه کنترل

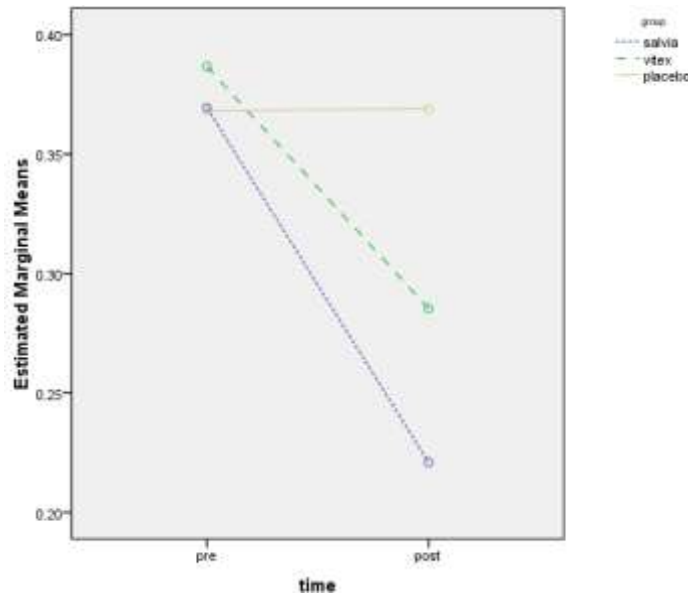
تفاوت میانگین نمره تلوپتید-C بین گروه مریم‌گلی و کنترل ( $p=0/001$ ) و بین گروه پنج‌انگشت و کنترل بعد از مداخله ( $p=0/049$ ) از نظر آماری معنی‌دار بود، ولی تفاوت میانگین نمره تلوپتید-C بین گروه پنج‌انگشت و مریم‌گلی بعد از مداخله از نظر آماری معنادار نبود ( $p=0/118$ ) (جدول ۳، نمودار ۴).

میانگین تلوپتید-C بعد از مداخله در مقایسه با قبل از مداخله در گروه مریم‌گلی و پنج‌انگشت به  $0/118 \pm 0/08$  و  $0/12 \pm 0/04$  واحد کاهش یافت که این کاهش تلوپتید-C از نظر آماری معنادار بود ( $p < 0/05$ ) که بر اساس نتایج آزمون آنالیز واریانس، میانگین تلوپتید-C قبل و بعد از مداخله در سه گروه متفاوت بود ( $p=0/003$ ) بر اساس نتایج آزمون تعقیبی LSD.

جدول ۳- مقایسه میانگین تلوپتید-C سرم قبل و بعد از مداخله در سه گروه مورد مطالعه

سطح	گروه کنترل	گروه عصاره پنج‌انگشت	گروه عصاره مریم‌گلی	تلوپتید-C (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)
معنی‌داری**	انحراف معیار $\pm$ میانگین	انحراف معیار $\pm$ میانگین	انحراف معیار $\pm$ میانگین	
0/92	$0/4 \pm 0/2$	$0/4 \pm 0/2$	$0/4 \pm 0/2$	قبل از مداخله
0/003	$0/36 \pm 0/19$	$0/28 \pm 0/16$	$0/22 \pm 0/12$	بعد از مداخله
0/005	$0/04 \pm 0/01$	$0/12 \pm 0/04$	$0/18 \pm 0/08$	تغییرات
	0/326	$> 0/001$	0/043	سطح معنی‌داری*

\* تی تست جفتی، \*\* آنوا یک‌طرفه



نمودار ۴- مقایسه سطح تلوپتید-C سرم قبل و بعد از مداخله در سه گروه مورد مطالعه

## بحث

در مطالعه حاضر میانگین نمره آلکالین فسفاتاز بین گروه پنج‌انگشت و کنترل و بین مریم‌گلی و کنترل بعد از مداخله تفاوت آماری معناداری داشت. نتایج مطالعه حاضر در مورد آلکالین فسفاتاز (ALP) با مطالعه هالوی کی و همکاران (۲۰۱۹) همسو بود. در مطالعه آنها که اثر مریم‌گلی بر فاکتورهای استئوژنیک موش را بررسی کردند، بعد از برداشتن تخمدان موش و درمان با مریم‌گلی، میزان آلکالین فسفاتاز نسبت به کنترل افزایش یافت (۱۶). در مطالعه صالح و همکار (۲۰۱۱) میزان آلکالین فسفاتاز با درمان زیتون نسبت به گروه کنترل (فاقد تخمدان و بدون زیتون)، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (۲۸)، اما در مطالعه یالسینکایا و همکاران (۲۰۰۸) که به بررسی اثر پنج‌انگشت بر روی شکستگی استخوان در خرگوش سفید پرداختند، بعد از ۳ هفته درمان، میزان آلکالین فسفاتاز در دو گروه مداخله و کنترل تغییری نکرده بود و پنج‌انگشت نتوانسته بود برتری نسبت به آب مقطر داشته باشد (۲۹) که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی نداشت که شاید به دلیل کم بودن دوز و مدت زمان مصرف پنج‌انگشت در گروه درمان بوده باشد. در مطالعه افتخاری و همکاران (۲۰۱۴) که اثر پنج‌انگشت و منیزیم را به‌تنهایی و در ترکیب با هم در شکستگی استخوان زنان ۴۵-۲۰ ساله بررسی کردند،

آلکالین فسفاتاز در گروه پنج‌انگشت+پلاسبو افزایش قابل توجهی داشت و افزایش استئوکلسین به‌طور قابل توجهی در گروه پنج‌انگشت+منیزیم بالاتر از گروه پنج‌انگشت و پلاسبو بود (۳۰).

در مطالعه افتخاری و همکاران (۲۰۱۴) میزان آلکالین فسفاتاز بعد از مصرف پنج‌انگشت افزایش یافته بود، اما در مطالعه حاضر کاهش یافته بود که دلیل این تفاوت این است که در مطالعه افتخاری و همکاران زنان قبل از سن یائسگی بررسی شده بودند، اما مطالعه حاضر بر روی زنان یائسه انجام شد و بعد از یائسگی به‌علت کاهش استروژن، بازگردش استخوان<sup>۱</sup> افزایش می‌یابد، یعنی میزان تشکیل و تخریب استخوان افزایش پیدا می‌کند و همین افزایش بازگردش استخوان باعث افزایش از دست رفتن آن می‌شود که با مصرف فیتواستروژن‌ها، میزان این بازگردش (تشکیل و تخریب استخوان) کاهش می‌یابد تا از پوکی استخوان جلوگیری کند. آلکالین فسفاتاز، نشانگر مهم بیوشیمیایی استخوان است و سطح این آنزیم در پوکی استخوان و دیگر اختلالات سوخت‌وساز افزایش می‌یابد و به‌عنوان مارکر تشکیل استخوان برای پایش بیماران استفاده می‌شود (۳۰). تنظیم فعالیت آلکالین فسفاتاز در سلول‌های استئوبلاست به مسیر «پروتئین

<sup>1</sup> Bone turnover



کیناز فعال شده با میتوزن<sup>۱</sup> وابسته است. در مطالعه جیا و همکاران (۲۰۱۶) مشخص شد که برخی فلاونوئیدها همانند استرادیول از طریق مسیرهای وابسته به گیرنده‌های استروژن باعث فعال کردن مسیر MAPK در استئوبلاست‌ها می‌شوند (۳۱). آلکالین فسفاتاز آنزیمی یکی از نشانگرهای مهم تشکیل استخوان است. نیمه‌عمر آلکالین فسفاتاز استخوانی ۱-۲ روز است و عملکرد اصلی آن ناشناخته است. در استخوان ممکن است در شکست پیروفسفات و مینرالیزاسیون استخوان نقش داشته باشد و مهارکننده قوی رسوب کلسیم و فسفات در سطح خارج سلولی است (۱۹).

در مطالعه حاضر اگرچه دو گروه مداخله در اثربخشی نمره استئوکلسین بسیار شبیه به هم بودند، اما پنج‌انگشت نسبت به مریم‌گلی در بهبود نمره استئوکلسین بهتر عمل کرد، اگرچه این میزان معنادار نبود.

در این راستا در مطالعه چو و همکاران (۲۰۱۱) که اثر دانه گلرنگ<sup>۲</sup> که حاوی فیتواستروژن است را بر روی زنان یائسه مورد بررسی قرار دادند (۳۲)، درمان با فیتواستروژن در زنان یائسه باعث کاهش میزان استئوکلسین سرم شد که نتایج آن با مطالعه حاضر همخوانی داشت. در مطالعه الکومی و همکاران (۲۰۱۵) که تأثیر ترکیبی از مریم‌گلی، رزماری<sup>۳</sup> و آویشن<sup>۴</sup> را بر استخوان موش بررسی کردند، ۴۰ موش ماده آلبینو<sup>۵</sup> را به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم کردند. گروه اول شامل گروه کنترل، گروه دوم برداشتن تخمدان و بدون درمان، گروه سوم برداشتن تخمدان+۲۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم بی‌کربنات کلسیم، گروه چهارم برداشتن تخمدان+۳۰ گرم بر کیلوگرم ترکیب گیاهی و گروه پنجم برداشتن تخمدان+ ترکیب گیاهی+ بی‌کربنات کلسیم بود. بعد از یک ماه درمان، میزان آلکالین فسفاتاز، اسید فسفاتاز، استئوکلسین هورمون پاراتورمون در گروه بدون مداخله (برداشتن تخمدان و بدون درمان) افزایش یافت، یعنی فاکتورهای تشکیل و تخریب استخوان با برداشتن تخمدان و افت استروژن افزایش یافتند؛ به عبارتی دیگر

بازگردش استخوان افزایش یافته بود که همین امر باعث از دست رفتن استخوان شده بود و از طرف دیگر میزان کلسیم و فسفر و چگالی مواد معدنی استخوان کاهش یافته بود، اما در گروه سوم ترکیب گیاهی باعث افزایش کلسیم (۷/۹۶±۰/۰۸) و فسفر (۲/۹۹±۰/۵۰) و کاهش آلکالین فسفاتاز (۵۲/۶۰±۰/۳۰)، استئوکلسین (۲۲/۱۰±۰/۱۳)، اسید فسفاتاز (۵۳/۷۰±۰/۷۹) و کلسیتونین (۳/۵۴±۰/۰۸۱) در گروه درمان با این ترکیب نسبت به گروهی که این ترکیب را دریافت نمی‌کردند، شد (۳۳) که نتایج آن با مطالعه حاضر همسو بود و همانند مطالعه حاضر درمان با فیتواستروژن باعث کاهش استئوکلسین شد، اما در مطالعه ژانگ و همکاران (۲۰۰۷) که اثر فیتواستروژن‌ها را روی زنان یائسه مورد بررسی قرار دادند، در انتها در گروه درمان میزان داکسی پیریدینولین (DPD)<sup>۶</sup> (از فاکتورهای تخریب) در گروه درمان کاهش معنی‌داری را نشان داد، اما استئوکلسین تغییر معنی‌داری پیدا نکرد (۳۴) که این عدم تغییر در میزان استئوکلسین با مطالعه حاضر همخوانی نداشت که ممکن است به این علت باشد که این مطالعه فقط زنان یائسه‌ای را که مدت زمان زیادی از یائسگی آنها می‌گذشت را مورد بررسی قرار داده بود، اما در مطالعه حاضر میانگین سنی زنان یائسه ۵۵ سال بود.

استئوکلسین به‌عنوان یکی از مارکرهای تشکیل استخوان برای پایش بیماران استفاده می‌شود. سطح استئوکلسین سرم به‌طور قوی میزان سنتز جدید پروتئین را مشخص می‌کند و فراوان‌ترین پروتئین غیرکلاژنی در استخوان است و در مطالعات دیگران از جمله لیو و همکاران (۲۰۱۴) و مطالعه هالوی کی و همکاران (۲۰۱۹) مشخص شده است که برداشتن تخمدان در موش‌ها باعث افزایش آلکالین فسفاتاز و استئوکلسین (فاکتورهای تشکیل استخوان) می‌شود که این نشان می‌دهد با برداشتن تخمدان و کاهش سطح استروژن، میزان تشکیل استخوان و همچنین تخریب استخوان افزایش می‌یابد؛ یعنی همان بازگردش استخوان بالا می‌رود (یعنی همان اتفاقی که در زنان بعد از یائسگی می‌افتد) که همین تشکیل و تخریب زیاد باعث از دست رفتن

<sup>1</sup> Mitogen – activated protein kinase (MAPK)

<sup>2</sup> Safflower seed

<sup>3</sup> Rosemary

<sup>4</sup> Thyme

<sup>5</sup> Albino

<sup>6</sup> Doxy piridinoline

و از نظر بروز عوارض جانبی نیز در ۵ مطالعه تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مداخله و کنترل مشاهده نشده بود ( $p=0/75$ ) (۳۸).

مکانیسم عمل فیتواستروژن‌ها در استخوان می‌تواند شبیه استروژن درمانی جایگزین باشد که در ابتدا کاهش در فاکتورهای تخریب و سپس کاهش در فاکتورهای تشکیل استخوان اتفاق می‌افتد که مشابه این اثر در بیس فسفونات‌ها<sup>۳</sup> و دنوزوماب<sup>۴</sup> هم مشاهده می‌شود (۳۹). از میوه رسیده و خشک پنج‌انگشت دو گلیکوزید ایریدوئید<sup>۵</sup> به نام آگنوساید<sup>۶</sup> و آکوبین<sup>۷</sup> به دست می‌آید که حاوی فلاونوئیدها<sup>۸</sup> و برخی روغن‌های اساسی است. پنج‌انگشت در درمان علائم وابسته به استروژن با ارزش است. این دارو روی هیپوفیز اثر گذاشته و مطالعات نشان می‌دهد وقتی پنج‌انگشت به‌طور منظم برای ۸-۴ هفته استفاده شود، موجب افزایش هورمون لوتئینیزه و پروژسترون شده، بالانس هورمونی ایجاد نموده و به پیشرفت سلامتی کمک می‌کند و می‌تواند برای کاهش علائم زنان حول‌وحوش یائسگی مؤثر باشد (۴۰). همچنین ترکیبات فنلی موجود در مریم‌گلی، به از بین رفتن رادیکال‌های آزاد کمک می‌کند و در نتیجه به احتمال زیاد تخریب استخوان را سرکوب می‌کند (۴۱).

در مطالعه حاضر نیز عصاره پنج‌انگشت و مریم‌گلی باعث کاهش در فاکتورهای تشکیل استخوان یعنی آلکالین فسفاتاز و استئوکلسین شد. از سوی دیگر باعث کاهش در فاکتور تخریب استخوان یعنی تلوپتید-*C* شد و این مشخص می‌کند که این دو گیاه می‌توانند با کاهش بازگردش استخوان بعد از یائسگی در پیشگیری از استئوپروز مؤثر باشند.

یکی از مشکلات اجرایی این طرح، هماهنگی جهت انجام آزمایشات و مسئله دیگر، کوتاهی احتمالی افراد جامعه پژوهش جهت استفاده صحیح قرص‌ها بود که با تلفن در طول مداخله توسط پژوهشگر (به‌صورت هفتگی)، ضرورت دقت در مصرف به‌موقع قرص‌ها یادآوری شد، اما

استخوان و بروز استئوپروز می‌شود، بنابراین درمان با فیتواستروژن‌ها می‌تواند این بازگردش را کاهش و از بروز پوکی استخوان پیشگیری کند (۱۶، ۳۵).

در مطالعه حاضر مقایسه میانگین تلوپتید-*C* (CTX) سرم و کاهش این فاکتور در دو گروه مداخله نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. اگرچه دو گروه مداخله در اثربخشی نمره تلوپتید-*C* شبیه به هم عمل کردند، اما مریم‌گلی نسبت به پنج‌انگشت در بهبود نمره تلوپتید-*C* بهتر عمل کرد، اگرچه این میزان معنادار نبود.

در این راستا در مطالعه ساتی آپالان و همکاران (۲۰۱۶) که اثر ایزوفلاون و سویا را بر روی زنان یائسه مورد مطالعه قرار دادند، ۲۰۰ زن را تصادفی به دو گروه درمان و کنترل تقسیم کردند و به گروه درمان روزانه ۱۵ گرم پروتئین سویا و ۶۶ میلی‌گرم ایزوفلاون و به گروه کنترل روزانه فقط ۱۵ گرم پروتئین سویا به مدت ۶ ماه داده شد. در ابتدا و انتها میزان تلوپتید-*C* و پروپتید آن پروکلاژن نوع ۱<sup>۱</sup> (PINP) (که فاکتور تشکیل است) در دو گروه اندازه‌گیری شد. میزان تلوپتید-*C* در گروه درمان از  $0/40 \pm 0/17$  به  $0/15 \pm 0/09$  و در گروه کنترل از  $0/35 \pm 0/12$  به  $0/35 \pm 0/13$  تغییر پیدا کرد و میزان PINP در گروه درمان از  $50/5 \pm 0/25$  به  $34/3 \pm 17/6$  کاهش یافت (۳۶) که نتایج آن با مطالعه حاضر در مورد کاهش CTx بعد از درمان با فیتواستروژن هم‌خوانی داشت. در مطالعه لی و همکاران (۲۰۱۴) که تأثیر نارینژین<sup>۲</sup> (فلاونوئید) را بر روی ۶۰ موش ۶ ماهه بررسی کردند، در گروه‌های درمان با نارینژین به‌صورت وابسته به دوز میزان تلوپتید-*C* کاهش پیدا کرد (۳۷) که این کاهش در فاکتور تخریب استخوان با مطالعه حاضر هم‌خوانی داشت. از طرف دیگر نتایج بررسی متانالیز و مرور سیستماتیک چن (۲۰۱۵) نشان داد داد که در بین مطالعات در ۷ مطالعه فیتواستروژن‌ها در مقایسه با پلاسبو تفاوت معنی‌داری نداشتند و در ۱۰ مطالعه گزارش دادند که فیتواستروژن باعث کاهش قابل ملاحظه‌ای در گرگرفتگی در مقایسه با پلاسبو شده است

<sup>3</sup> Bisphosphonates)

<sup>4</sup> Denosumab

<sup>5</sup> Glycoside Axyryduuyd

<sup>6</sup> Agnusaid

<sup>7</sup> Akubin

<sup>8</sup> Flavenoid

<sup>1</sup> N-terminal propeptide of type I collagen

<sup>2</sup> Naringin

به‌عنوان یک درمان جایگزین در کسانی که قادر به استفاده از هورمون درمانی نیستند، مورد استفاده قرار گیرند. با توجه به اینکه یکی از وظایف تیم پزشکی، ارتقاء سطح سلامت زنان یائسه می‌باشد، بنابراین انجام چنین پژوهش‌هایی می‌تواند روش‌های درمانی نوین‌تر، کم‌عارضه‌تر و مقرون‌به‌صرفه‌تر را در دسترس این گروه سنی که درصد بالایی از هرم سنی را در آینده جامعه تشکیل می‌دهند، قرار دهد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد افسانه زیدآبادی با شماره طرح ۱۰۲۵۵ دانشگاه علوم پزشکی شیراز می‌باشد که با حمایت مالی معاونت پژوهشی انجام شد. بدین‌وسیله از حمایت و همکاری معاونت پژوهشی دانشگاه و مرکز درمانی بیمارستان نمازی و شرکت کنندگان در پژوهش، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

چنانچه واحدهای پژوهش طبق پروتکل مداخله رفتار نکرده بودند، فرد از پژوهش خارج شده و فرد دیگری جایگزین می‌شد. یکی از نقاط قوت این طرح این بود که تاکنون مطالعه مقایسه‌ای دو داروی گیاهی در مورد فاکتورهای استئوژنیک زنان یائسه انجام نشده است. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده بررسی تأثیر عصاره مریم‌گلی و پنج‌انگشت بر تراکم استخوان در زنان یائسه و ارزیابی توسط سنجش تراکم استخوان (BMD) مدنظر قرار گیرد.

### نتیجه‌گیری

میزان آلکالین فسفاتاز، استئوکلسین و تلویپتید-C بعد از مداخله در دو گروه مریم‌گلی و پنج‌انگشت نسبت به قبل از مداخله و همچنین نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری پیدا کرد. عصاره گیاه مریم‌گلی و پنج‌انگشت بر برخی فاکتورهای استئوژنیک مؤثر بوده و می‌تواند

### منابع

1. Akbari Torkestani N, davoodabadi Farahani M. Comparative effects of flaxseed, soy on menopausal hot flashes. *Comparison Medicine* 2012; 2(3):52-60.
2. Bommer SA, Klein P, Suter A. First time proof of sage's tolerability and efficacy in menopausal women with hot flushes. *Advances in therapy* 2011; 28(6):490-500.
3. Taavoni S, Izadjoo M, Nazem Ekbatani N, Haghani H. Effect of Lemon Balm supplementation on menopausal symptoms. *Complementary Medicine Journal* 2016; 5(4):1324-36.
4. Golshiri P, Akbari M, Abdollahzadeh MR. Age at natural menopause and related factors in Isfahan, Iran. *Journal of menopausal medicine* 2016; 22(2):87-93.
5. Mazarro-Costa R, Andersen ML, Hachul H, Tufik S. Medicinal plants as alternative treatments for female sexual dysfunction: utopian vision or possible treatment in climacteric women?. *The journal of sexual medicine* 2010; 7(11):3695-714.
6. Zeidabadi A, Emamghoreishi M, Hosein Dabbaghmanesh M, Dejbakhat M, Reza Sasani M, Akbarzadeh M. Comparison of The Effect of Vitex agnus and Salvia Officinalis Extract at Calcium, Phosphorus and Vitamin D Levels in Postmenopausal Women Referring to Bone Mineral Densitometry Center: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Bulletin of Pharmaceutical Sciences Assiut* 2021; 44(2):363-72.
7. Zeidabadi A, Yazdanpanahi Z, Dabbaghmanesh MH, Sasani MR, Emamghoreishi M, Akbarzadeh M. The effect of Salvia officinalis extract on symptoms of flushing, night sweat, sleep disorders, and score of forgetfulness in postmenopausal women. *J Family Med Prim Care* 2020; 9(2):1086-92.
8. Takeuchi Y. [Secondary osteoporosis. Clinical approach to secondary osteoporosis.] *Clinical Calcium* 2018; 28(12):1575-1580
9. Gambacciani M, Levancini M. Management of postmenopausal osteoporosis and the prevention of fractures. *Panminerva medica* 2014; 56(2):115-31.
10. Li S, He H, Ding M, He C. The correlation of osteoporosis to clinical features: a study of 4382 female cases of a hospital cohort with musculoskeletal symptoms in southwest China. *BMC Musculoskeletal Disorders* 2010; 11(1):1-9.
11. Pavel OR, Popescu M, Novac L, Mogoantă L, Pavel LP, Vicaș RM, et al. Postmenopausal osteoporosis-clinical, biological and histopathological aspects. *Romanian journal of morphology and embryology= Revue roumaine de morphologie et embryologie* 2016; 57(1):121-30.
12. Eslamian F, Hajalilu M. Effect of aerobic and strengthening exercises on balance, muscle strength and bone density in post menopausal women with primary osteopenia and osteoporosis. *Studies in Medical Sciences* 2011; 22(3):166-75.

13. Suthon S, Jaroenporn S, Charoenphandhu N, Suntornsaratoon P, Malaivijitnond S. Anti-osteoporotic effects of *Pueraria candollei* var. *mirifica* on bone mineral density and histomorphometry in estrogen-deficient rats. *Journal of natural medicines* 2016; 70(2):225-33.
14. Weitzmann MN, Pacifici R. Estrogen deficiency and bone loss: an inflammatory tale. *The Journal of clinical investigation* 2006; 116(5):1186-94.
15. Reddy S, Karthikeyan R, Sherlin HJ, Anuja N, Pratibha R, Priya P, et al. Oral signs and salivary parameters as indicators of possible osteoporosis and osteopenia in postmenopausal women-A study of 45 subjects. *Brazilian Journal of Oral Sciences* 2016; 1502-6.
16. Holloway-Kew KL, De Abreu LL, Kotowicz MA, Sajjad MA, Pasco JA. Bone turnover markers in men and women with impaired fasting glucose and diabetes. *Calcified tissue international* 2019; 104(6):599-604.
17. Bergmann P, Body JJ, Boonen S, Boutsen Y, Devogelaer JP, Goemaere S, et al. Evidence-based guidelines for the use of biochemical markers of bone turnover in the selection and monitoring of bisphosphonate treatment in osteoporosis: a consensus document of the Belgian Bone Club. *International journal of clinical practice* 2009; 63(1):19-26.
18. Khashayar P, Aghaei Meybodi H, Amoabediny G, Larijani B. Biochemical markers of bone turnover and their role in osteoporosis diagnosis: a narrative review. *Recent patents on endocrine, metabolic & immune drug discovery* 2015; 9(2):79-89.
19. Swaminathan R. Biochemical markers of bone turnover. *Clinica chimica acta* 2001; 313(1-2):95-105.
20. Veerus P, Hovi SL, Sevón T, Hunter M, Hemminki E. The effect of hormone therapy on women's quality of life in the first year of the Estonian Postmenopausal Hormone Therapy trial. *BMC research notes* 2012; 5(1):1-6.
21. Bilezikian JP. Current and future nonhormonal approaches to the treatment of osteoporosis. *International journal of fertility and menopausal studies* 1996; 41(2):148-55.
22. Rahimikian F, Golian SH, Mehran A, Bashiri A. Assessment The rate of use or refusal of Hormon Replacement Therapy in menopausal women referred to gynecology clinics, in selected hospitals of Tehran University of Medical Sciences. *Hayat Journal* 2002; 8(2):53-61.
23. Heydari L, Suhrabi Z, Sayehmiri F, Sayehmiri K. Effect of herbaceous medicines effective in hot flashes of menopause women: a systematic review and meta-analysis in Iran. *Iran J Obstet Gynecol Infertil* 2014; 17(109):16-25.
24. Speroff L, Marc A, Fritz M. Menopause and the perimenopausal transition. In: *clinical gynecologic and infertility*. 8th ed. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins; 2011.
25. Allahtavakoli M, Honari N, Pouraboli I, Arababadi MK, Ghafarian H, Roohbakhsh A, et al. *Vitex agnus castus* extract improves learning and memory and increases the transcription of estrogen receptor  $\alpha$  in hippocampus of ovariectomized rats. *Basic and clinical neuroscience* 2015; 6(3):185-92.
26. Rempert J, Blázovics A. Fitoösztrogének a menopauza terápiájában| Phytoestrogens in the treatment of menopause. *Orvosi hetilap* 2017; 158(32):1243-51.
27. Filip R, Possemiers S, Heyerick A, Pinheiro I, Raszewski G, Davicco MJ, et al. Twelve-month consumption of a polyphenol extract from olive (*Olea europaea*) in a double blind, randomized trial increases serum total osteocalcin levels and improves serum lipid profiles in postmenopausal women with osteopenia. *The journal of nutrition, health & aging* 2015; 19(1):77-86.
28. Saleh NK, Saleh HA. Olive oil effectively mitigates ovariectomy-induced osteoporosis in rats. *BMC complementary and alternative medicine* 2011; 11(1):1-11.
29. Yalçinkaya U, Aykut S, Akgöz S, Özkan Y, Yanik K. The effects of phytoestrogens on fracture healing: experimental research in New Zealand white rabbits. *Turkish Journal of Trauma & Emergency Surgery* 2008; 14(1):21-7.
30. Eftekhari MH, Rostami ZH, Emami MJ, Tabatabaee HR. Effects of "vitex agnus castus" extract and magnesium supplementation, alone and in combination, on osteogenic and angiogenic factors and fracture healing in women with long bone fracture. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences* 2014; 19(1):1.
31. Min JI, Yuan LI, Hai-Liang XI, Ting-Ting HO, Zhang ND, Hong-Tao XU, et al. Estrogenic activity of osthole and imperatorin in MCF-7 cells and their osteoblastic effects in Saos-2 cells. *Chinese journal of natural medicines* 2016; 14(6):413-20.
32. Cho SH, Jang JH, Yoon JY, Han CD, Choi Y, Choi SW. Effects of a safflower tea supplement on antioxidative status and bone markers in postmenopausal women. *Nutrition research and practice* 2011; 5(1):20-7.
33. Elkomy MM, Elsaid FG. Anti-osteoporotic effect of medical herbs and calcium supplementation on ovariectomized rats. *The Journal of Basic & Applied Zoology* 2015; 72:81-8.
34. Zhang G, Qin L, Shi Y. Epimedium-derived phytoestrogen flavonoids exert beneficial effect on preventing bone loss in late postmenopausal women: a 24-month randomized, double-blind and placebo-controlled trial. *Journal of bone and mineral research* 2007; 22(7):1072-9.
35. Liu H, Huang H, Li B, Wu D, Wang F, hua Zheng X, et al. Olive oil in the prevention and treatment of osteoporosis after artificial menopause. *Clinical interventions in aging* 2014; 9:2087.

36. Sathyapalan T, Aye M, Rigby AS, Fraser WD, Thatcher NJ, Kilpatrick ES, et al. Soy reduces bone turnover markers in women during early menopause: a randomized controlled trial. *Journal of bone and mineral research* 2017; 32(1):157-64.
37. Li F, Sun X, Ma J, Ma X, Zhao B, Zhang Y, et al. Naringin prevents ovariectomy-induced osteoporosis and promotes osteoclasts apoptosis through the mitochondria-mediated apoptosis pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2014; 452(3):629-35.
38. Chen MN, Lin CC, Liu CF. Efficacy of phytoestrogens for menopausal symptoms: a meta-analysis and systematic review. *Climacteric* 2015; 18(2):260-9.
39. Sathyapalan T, Aye M, Rigby AS, Fraser WD, Thatcher NJ, Kilpatrick ES, et al. Soy reduces bone turnover markers in women during early menopause: a randomized controlled trial. *Journal of bone and mineral research* 2017; 32(1):157-64.
40. Kazemian A, Bromand KH, Ghanadi A, Nooryan K. Effect of Vitagnus and Passi-pay on hot flash of menopausal women. *Journal of Shahrekord Uuniversity of Medical Sciences* 2005; 7(1):39-45.
41. Ghorbani A, Esmailizadeh M. Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of traditional and complementary medicine* 2017; 7(4):433-40.