

# تأثیر پروتئین سویا بر شاخص‌های متابولیسم استخوان در زنان یائسه مبتلا به استئوپنی

آرزو حقیقیان رودسری (M.Sc.)<sup>۱</sup>، فریده طاهباز (Ph.D.)<sup>۲</sup>، بهرام ارجمندی (Ph.D.)<sup>۳</sup>، باقر لاریجانی (M.D.)<sup>۳</sup>، مسعود  
کیمیگر (Ph.D.)<sup>۴</sup>.

- ۱- کارشناس ارشد علوم تغذیه، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران.
- ۲- استادیار، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران.
- ۳- استاد، مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران.
- ۴- استاد، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران.

## چکیده

**مقدمه:** کاهش توده استخوانی یکی از مهمترین عوارض دوران یائسگی است که اغلب ناشی از افت سطح هورمون‌های تخمدانی می‌باشد. ترکیبات شبه استروژنی مثل ایزوفلاون‌ها که در گیاهان به ویژه سویا یافت می‌شوند به دلیل شباهت ساختمانی با استروژن ممکن است سرعت کاهش توده استخوان را در زنان یائسه کم کنند. لذا این تحقیق با هدف بررسی اثر پروتئین سویا بر شاخص‌های بیوشیمیایی متابولیسم استخوان در زنان یائسه مبتلا به استئوپنی انجام شد.

**مواد و روشها:** این مطالعه به روش کارآزمایی بالینی و به صورت قبل و بعد، بر روی ۱۵ زن یائسه مبتلا به استئوپنی ۶۴-۴۵ ساله انجام گرفت. به افراد شرکت کننده، مصرف روزانه ۳۵g پروتئین سویا به مدت ۱۲ هفته توصیه شد. نمونه‌گیری خون و ادرار، اندازه‌گیری‌های تن سنجی و یادآمد غذایی ۲ روزه در هفته‌های ۶، ۱۰ و ۱۲ صورت گرفت. داده‌های بررسی مصرف غذایی با برنامه Food Processor تحلیل و جهت بررسی تغییرات شاخص‌های متابولیسم استخوان و تغییرات داده‌های آنتروپومتری و رژیم غذایی از آنالیز اندازه‌گیری‌های تکراری استفاده گردید. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

**نتایج:** مقایسه تغییرات وزن، BMI، فعالیت بدنی و دریافت انرژی و سایر مواد مغذی مداخله‌گر در مراحل مختلف بررسی تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. مصرف پروتئین سویا، کاهش معنی‌داری را در شاخص دزوکسی‌پیریدینولین ادرار و افزایش معنی‌داری در شاخص آلکالین فسفاتاز تام نشان داد ( $P < 0/05$ )؛ اما تغییرات ایجاد شده در شاخص‌های استئوکلسین، C-تلوپپتید، پروتئین پیوندشونده با عامل رشد شبه انسولینی (IGFBP3) و تلوپپتید کلاژن نوع I معنی‌دار نبود.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به تأثیر مفید مصرف پروتئین سویا بر شاخص‌های متابولیسم استخوان، گنجاندن این ماده غذایی ارزان و در دسترس، در رژیم غذایی روزانه زنان یائسه، احتمالاً سرعت روند کاهش توده استخوانی را در آنها کم می‌نماید و می‌تواند گامی مثبت در جهت پیشگیری از پوکی استخوان باشد.

**کل واژگان:** پروتئین سویا، ایزوفلاون‌ها، زنان یائسه، شاخص‌های متابولیسم استخوان، و استئوپنی.

**آدرس مکاتبه:** دکتر باقر لاریجانی، مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم، طبقه پنجم، بیمارستان دکتر شریعتی، خیابان کارگر شمالی، تهران، ایران.

پست الکترونیک: emrc@sina.tums.ac.ir

## مقدمه

یائسگی یک مرحله از زندگی زنان می‌باشد که به طور معمول یک سوم از طول دوران عمر خود را در آن به سر می‌برند (۱). کاهش توده استخوانی یکی از مهمترین عوارض دوران یائسگی است که اغلب ناشی از افت هورمون‌های تخمدان به ویژه استروژن می‌باشد (۲) و این عامل، زنان یائسه را بیشتر در معرض خطر پوکی استخوان قرار می‌دهد (۳).

پوکی استخوان که یک مشکل بهداشتی جدی برای زنان یائسه محسوب می‌شود، آنها را مستعد افزایش خطر شکستگی استخوان می‌کند و این مسأله با افزایش سن بیشتر می‌شود؛ به طوری که میزان شیوع پوکی استخوان از ۴٪ در زنان ۵۰-۵۹ ساله به ۵۲٪ در زنان ۸۰ ساله یا مسن‌تر می‌رسد و در ۳۰-۲۵٪ زنان مسن این کاهش توده استخوان منجر به مشکلات شکستگی می‌گردد (۴).

امروزه جهت پیشگیری و درمان پوکی استخوان از استروژن درمانی، داروهای مثل بیسفسفونات‌ها، کلسی‌تونین و رالوکسیفن (۵) استفاده می‌شود؛ اما بدلیل عواقب احتمالی استروژن درمانی مانند سرطان پستان و آدنوکارسینوما آندومتر (۶)، پذیرش این نوع درمان در بین زنان بسیار کم است (۷) و تنها ۳-۸٪ زنان یائسه حاضر به این نوع درمان می‌باشند (۸).

مطالعات اپیدمیولوژی نشان داده است که در بین آسیایی‌ها، میزان شکستگی استئوپروتیک، بیماری‌های قلبی عروقی، علائم بعد از یائسگی و بعضی از سرطان‌ها نسبت به غربی‌ها کمتر است. به عنوان مثال میزان شکستگی لگن در زنان آسیایی ۶۰-۵۰٪ کمتر از زنان غربی می‌باشد (۹). این مزیت به طور قابل توجهی زمانی که آسیایی‌ها با سبک زندگی و عادات غذایی غربی سازگار می‌شوند، کاهش می‌یابد (۱۰). این مشاهدات محققین را بر آن داشت تا بررسی بیشتری در مورد رژیم غذایی آسیایی‌ها داشته باشند. سویا

بخشی از رژیم غذایی سنتی در آسیاست و با افزایش تعداد مطالعات، رابطه‌ای بین دریافت سویا و بیماری‌های ذکر شده مشخص گردید (۱۱).

محققین بر این باورند که ترکیبات شبه استروژنی مثل ایزوفلاون‌ها که در گیاهان به ویژه سویا یافت می‌شوند (۱۲) به دلیل شباهت ساختمانی به استروژن ممکن است اثرات مفیدی در مهار کاهش توده استخوانی در زنان یائسه داشته باشند (۱۳). اما برخی از مطالعات از نقش ایزوفلاون‌های سویا در پیشگیری یا درمان پوکی استخوان حمایت نمی‌کنند (۱۴).

ایزوفلاون‌ها استروژن‌های گیاهی هستند که مشابه هورمون استروژن زنان به گیرنده‌های استروژنی سلول‌ها در ارگان‌های مختلف بدن انسان باند می‌شوند ولی میل ترکیبی استروژن‌های گیاهی ضعیف‌تر از استروژن انسانی است. تحقیقات اخیر نشان داده است که سلول‌ها دو نوع گیرنده استروژنی  $\alpha$  و  $\beta$  دارند که استروژن انسانی میل ترکیبی زیادی به گیرنده‌های  $\alpha$  دارد در صورتی که ایزوفلاون‌ها تمایل به باند شدن با گیرنده‌های  $\beta$  دارند. گیرنده‌های  $\beta$  در مغز، استخوان، مثانه و اپیتلیوم عروق وجود دارند که احتمالاً این گیرنده‌ها در عملکرد استروژن‌های غیراسترویدی اهمیت دارند (۱۵).

این مطالعه به منظور بررسی اثرات پروتئین سویا بر شاخص‌های بیوشیمیایی متابولیسم استخوان در زنان یائسه مبتلا به استئوپنی انجام شد.

## مواد و روشها

این تحقیق به روش کارآزمایی بالینی و به صورت قبل و بعد، در سال ۱۳۸۲ انجام شد. ابتدا افراد مراجعه کننده به درمانگاه استئوپروز مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران و واحد سنجش تراکم استخوان بیمارستان شریعتی، بررسی و ۱۵ زن

یائسه مبتلا به استئوپنی واجد شرایط ورود به تحقیق انتخاب شدند. محدوده سنی ۶۴-۴۵ سال، فاصله حداقل یک و حداکثر ۱۰ سال از یائسگی، عدم استعمال دخانیات، الکل و مواد مخدر، عدم ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی، کبدی، کلیوی، اختلالات گوارش، دیابت، هیپوتیروئیدیسم، عدم مصرف داروهای مؤثر بر متابولیسم چربی، کلسیم و استخوان، مصرف مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی، املاح، ویتامین و هورمون درمانی از معیارهای ورود به این مطالعه بودند.

اطلاعات فردی شامل وزن و قد و BMI، بررسی مصرف مواد غذایی به روش یادآمد ۲۴ ساعته ۲ روزه و فعالیت بدنی در ابتدا، پایان هفته ۶ و پایان هفته ۱۲ ارزیابی شد.

در طراحی این مداخله، مقدار ۳۵gr پروتئین سویا که حاوی ۹۸/۳g ایزوفلاونوئید می‌باشد برای مصرف روزانه افراد در نظر گرفته شد. از افراد خواسته شد که به مدت ۱۲ هفته هر روز ۳۵g سویا را با پیمانه مخصوصی که به آنها داده شد اندازه‌گیری کنند و طبق دستورالعمل پخت در رژیم غذایی خود مصرف نمایند. نمونه‌گیری خون و ادرار در سه مرحله یعنی ابتدا، پایان هفته ۶ و پایان هفته ۱۲ انجام گرفت. سرم‌ها به همراه نمونه‌های ادرار تا پایان هفته ۱۲، در سردخانه  $80^{\circ}\text{C}$ - نگهداری و اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی مورد نظر در همه سرم‌ها در یک روز انجام شد. با استفاده از نمونه خون گرفته شده، آلکالین فسفاتاز تام به روش کالریمتری با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (Hitachi 902)، استئوکلکسین به روش IRMA<sup>۱</sup> (Nordic Bioscience, Denmark) و دستگاه گاماکانتر (Wizard)، شاخص‌های IGFBP3 و C-تلوپپتید به روش ELISA<sup>۲</sup> به ترتیب با استفاده از کیت IBL (England) و دستگاه ELISA Reader، شاخص

تلوپپتید کلاژن نوع I به روش RIA<sup>۳</sup> (Orion-Diagnostica, Finland) و دستگاه گاماکانتر (Wizard, Holand) اندازه‌گیری شد. با استفاده از ادرار جمع‌آوری شده، دزوکسی‌پیریدینولین به روش RIA و با استفاده از کیت IDS (England) و دستگاه گاماکانتر و کراتینین ادرار به روش کالریمتری (پارس آزمون، ایران) اندازه‌گیری گردید (۲۵).

به منظور تحلیل داده‌های بررسی مصرف مواد غذایی از نرم‌افزار Food Processor و به منظور تحلیل داده‌های تحقیق از برنامه آماری SPSS (11.5) استفاده شد. پس از آن تمامی متغیرهای کمی با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنوف (KS) از نظر طبیعی بودن توزیع مورد بررسی قرار گرفتند، جهت بررسی تغییرات داده‌های مصرف مواد غذایی، متغیرهای مداخله‌گر و بیوشیمیایی در سه مرحله از مطالعه از آزمون اندازه‌گیری‌های تکراری<sup>۴</sup> استفاده گردید. هدف از انجام این تحلیل، اطمینان از عدم تغییر معنی‌دار متغیرهای ذکر شده در تحقیق بود. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد ( $P < 0.05$ ).

## نتایج

مشخصات تن‌سنجی افراد شرکت کننده در تحقیق، در جدول شماره ۱ خلاصه شده است. میانگین سنی افراد  $52/9 \pm 4/3$  سال، مدت زمان سپری شده از یائسگی  $5/47 \pm 3/4$  سال و میانگین قد افراد  $157/4 \pm 7/2$  cm بود. میانگین نمایه توده بدن و میزان فعالیت بدنی نیز در طی مطالعه ثابت باقی ماند. میانگین داده‌های بررسی مصرف غذایی در ابتدا، پایان هفته ۶ و پایان هفته ۱۲، تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول شماره ۲). میانگین شاخص‌های متابولیسم استخوان در طی سه مرحله اندازه‌گیری در جدول شماره ۳ نشان داده شده است. به دنبال مصرف پروتئین سویا به مدت ۱۲ هفته

3 - Radioimmuno Assay

4- Repeated Measurement Analysis

1- Immuno Radiometric Assay

2- Enzyme -Linked Immunosorbent Assay

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار شاخص‌های تن‌سنجی در مراحل مختلف بررسی در مراجعه کنندگان به درمانگاه استنوپروز مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران، سال ۱۳۸۲

شاخص‌ها	زمان بررسی	قبل از مطالعه M±SD	پایان هفته ۶ M±SD	پایان هفته ۱۲ M±SD
وزن (Kg)		۶۸ ± ۷/۵	۶۸ ± ۷/۶	۶۸ ± ۷/۸
نمایه توده بدن* (Kg/m <sup>2</sup> )		۲۷/۴ ± ۳	۲۷/۴ ± ۳	۲۷/۴ ± ۳

\* میانگین قد افراد ۱۵۷/۴ ± ۷/۲cm بود.

شاخص آلکالن فسفاتاز تام سرم، افزایش معنی‌داری را نشان داد و این در حالیست که شاخص دزوکسی‌پیریدینولین (DPD)<sup>۱</sup> ادراری، بطور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵)؛ ولی سایر شاخص‌های اندازه‌گیری شده در این تحقیق شامل استنوکلسین، پروتئین پیوندشونده با عامل رشد انسولینی، C-تلوپپتید و تلوپپتیدهای کلاژن نوع I فاقد تغییرات معنی‌دار بودند.

### بحث

نتایج اصلی پژوهش نشان می‌دهد که مصرف پروتئین سویا موجب افزایش معنی‌داری در سطح آلکالین فسفاتاز تام سرم (TALP)<sup>۲</sup> و کاهش معنی‌داری در غلظت دزوکسی‌پیریدینولین (DPD) ادرار در زنان یائسه مبتلا به استئوپنی گردید؛ ولی سایر شاخص‌های

بررسی شده در این تحقیق تفاوت معنی‌داری نداشتند. در مطالعاتی که توسط ارجمندی و همکاران برای بررسی اثرات سویا روی رت‌ها انجام شد، افزایش اندکی در شاخص TALP دیده شد که این افزایش معنی‌دار نبود (۱۷ و ۱۶، ۲). Register و همکاران کاهش معنی‌داری در شاخص TALP پس از ۱۲ هفته در میمون دیدند (۱۸). تاکنون مطالعات انسانی جامع در زمینه بررسی اثرات سویا بر آلکالن فسفاتاز تام سرمی انجام نشده ولی به نظر می‌رسد این شاخص به دنبال اثرات مثبت سویا بر روند استخوان سازی افزایش می‌یابد. در مدل‌های حیوانی مثل میمون تنها ۳۰-۵۰٪ دایدزئین<sup>۳</sup> به اکوئول<sup>۴</sup> تبدیل می‌شود و ثابت شده است که اکوئول خاصیت استروژنی بیشتری نسبت به دایدزئین دارد به همین دلیل کارآیی ایزوفلاون‌ها در

جدول ۲- میانگین و انحراف معیار میزان دریافت غذایی روزانه افراد در مراحل مختلف بررسی در مراجعه کنندگان به درمانگاه استنوپروز مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران، سال ۱۳۸۲

دریافت غذایی	انرژی (Kcal) M±SD	پروتئین (g) M±SD	کلسیم (mg) M±SD	فسفر (mg) M±SD
قبل از مطالعه	۱۹۳۳/۴ ± ۳۰۲/۵	۷۴/۶ ± ۱۲/۳	۹۹۹/۳ ± ۴۶۰/۲	۸۷۳/۲ ± ۲۲۸/۹
پایان هفته ۶	۲۰۳۳/۲ ± ۴۲۰/۳	۷۱/۹ ± ۱۷/۴	۹۶۶/۸ ± ۴۴۳/۷	۸۵۳/۱ ± ۲۷۳/۹
پایان هفته ۱۲	۱۹۰۲/۸ ± ۳۰۸/۶	۷۴/۸ ± ۱۰/۲	۱۰۱۴ ± ۴۳۶	۸۶۶/۴ ± ۲۰۰/۶
P- value*	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

\* برای بررسی تغییرات از آزمون آنالیز اندازه گیری‌های تکراری استفاده شده است.

N.S.= Not Significant

3- Daidzeine  
4- Acoule

1- Desoxypyridinoline  
2- Total Alkaline Phosphatase

جدول ۳- میانگین و انحراف معیار شاخص‌های بیوشیمیایی متابولیسم استخوان در مراحل مختلف در مراجعه کنندگان به درمانگاه استئوپروز مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران، سال ۱۳۸۲

ITCP M±SD	C-Tx M±SD	DPD M±SD	IGFBP3 M±SD	OC M±SD	TALP M±SD	شاخص بیوشیمی
						زمان بررسی
۴/۶±۰/۹	۰/۷۹±۰/۴۹	۷±۱/۲	۳۳۰۴/۶±۷۲۸/۶	۱۱/۴±۴/۸	۲۳۷/۵±۸۵/۴**	قبل از مطالعه
۴/۳±۰/۹	۰/۸±۰/۴	۵/۹±۱/۱	۳۲۲۱/۶±۵۳۴/۴	۱۲/۷±۵/۷	۳۰۰/۴±۲۹۴/۱	پایان هفته ۶
۵/۹±۱/۱	۰/۸±۰/۳	۵/۱±۲/۱	۳۱۰۳/۹±۶۳۹/۸	۱۱/۵±۴/۸	۲۸۱/۳±۸۰/۵	پایان هفته ۱۲
N.S.	N.S.	<۰/۰۵	N.S.	N.S.	<۰/۰۵	P- value *

Oc:Osteocalcin (ng/ml); IGFBP3:Insulin like growth factor binding protein3(ng/ml); Dpd:Deoxypyridinoline (nmol/mmol);C-Tx:C-Telopeptides(ng/ml);ITCP:Carboxy trminal telopeptides of type I collagen(μg/l)

\* برای بررسی تغییرات از آزمون آنالیز اندازه گیری های تکراری استفاده شده است.

ایزوفلاون‌ها سبب افزایش (۲۶) یا عدم تغییر معنی‌دار (۱۶،۱۷) و حتی کاهش (۲۷) شاخص‌های تشکیل استخوان و کاهش یا عدم تغییر (۲۸،۲۹) شاخص‌های خوردگی استخوان شده‌اند. بنابراین تغییرات مشاهده شده در تحقیق حاضر تناقضی با نتایج مطالعات دیگر ندارد و تفاوت‌های مختصری که در مقایسه نتایج حاصل از پژوهش‌های مختلف مشاهده می‌گردد احتمالاً بدلیل مواردی مثل حجم نمونه، مقدار دریافت ایزوفلاون‌ها، مدت زمان مداخله و یکسان نبودن گروه‌های مورد مطالعه می‌باشد.

در مجموع به نظر می‌رسد پروتئین سویا با افزایش شاخص‌های استخوان‌سازی و مهار شاخص‌های خوردگی استخوان در تغییر متابولیسم استخوان در جهت حفظ توده استخوانی به ویژه در افراد در معرض خطر می‌تواند مؤثر باشد. تحقیقات مختلف، دوز مورد نیاز برای بروز اثرات مثبت ایزوفلاون‌ها را بین ۷۰-۹۰mg در روز گزارش کرده‌اند. میزان توصیه شده سویا در این مطالعه ۳۵g در روز است که حاوی ۹۸mg ایزوفلاون می‌باشد این میزان با نتایج بدست آمده از دیگر مطالعات همخوانی دارد (۳۰، ۳۱). البته برخی گزارش‌ها نشان می‌دهند که دریافت مقدار کمتر ایزوفلاون‌ها به صورت عادت غذایی، در دراز مدت

بدن میمون کم می‌باشد و نتایج به صورت کاهش سطح TALP گزارش شده است (۱۹،۲۰). طبق یافته‌های این تحقیق دزوکسی پیریدینولین ادراری در اثر مصرف پروتئین سویا کاهش معنی‌داری پیدا کرد که این نتیجه با یافته‌های بسیاری از تحقیقات انجام شده در این مورد مطابقت دارد (۲۳-۲۱). میزان تاثیر ایزوفلاون‌ها بر این شاخص بسیار زیاد است بطوری‌که Uesugi و همکاران (۲۴) مشاهده کردند که با مصرف ۶۱/۸mg ایزوفلاون به مدت ۴ هفته، کاهش معنی‌داری در دزوکسی پیریدینولین ادرار ایجاد می‌گردد. دزوکسی پیریدینولین پل ارتباطی بین فیبریل‌های کلاژن است که با شکستن کلاژن به درون ادرار آزاد می‌شوند و یک شاخص بسیار اختصاصی برای خوردگی استخوان است که کاهش معنی‌دار این شاخص در مطالعه حاضر نشان می‌دهد که مصرف پروتئین سویا می‌تواند از شکسته شدن کلاژن که اصلی‌ترین پروتئین ماتریکس استخوان است، جلوگیری نماید (۲۵).

غلظت سایر شاخص‌های سرمی متابولیسم استخوان در این مطالعه تغییر معنی‌داری نشان نداد. در اغلب مطالعاتی که در مورد اثرات ایزوفلاون‌ها روی شاخص‌های استخوانی در رت‌ها صورت گرفته است،

I- Resorption

علوم پزشکی تهران، واحد سنجش تراکم استخوان بیمارستان شریعتی و جناب آقای دکتر بهرام ارجمندی از دانشگاه اکلاهمای آمریکا که انجام آزمایش‌های اندازه‌گیری ایزوفلاون‌های پروتئین سویا را متقبل شدند و کلیه افرادی که با شرکت خود در این طرح تحقیقاتی، ما را در به ثمر رساندن این مطالعه یاری نمودند، سپاسگزاری می‌گردد. لازم به ذکر است بودجه این طرح توسط مرکز تحقیقات غدو متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران تامین شده است.

می‌تواند تاثیر مطلوبی روی بافت استخوان داشته باشد (۳۲). بنابراین مصرف پروتئین سویا که منبع با ارزشی از استروژن‌های گیاهی است، برای حفاظت از بافت استخوان به ویژه در جهت پیشگیری از پوکی استخوان توصیه می‌گردد.

### تشکر و قدردانی

در پایان از پرسنل محترم آزمایشگاه و گروه استئوپروز مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه

## References

- 1- Barrett C.E. Epidemiology and the menopause: A global overview. *Int J Fertil.* 1993;38:6-14.
- 2- Arjmandi B.H., Alekel L., Hollis B.W., Amin D. Dietary soybean protein prevents bone loss in an ovariectomized rat model of osteoporosis. *J Nut.* 1996; 126:161-7.
- 3- Dempster D.W., Lindsay R. Pathogenesis of osteoporosis. *Lancet.* 1996;341:797-801.
- 4- Position statement of the north american menopause society. Management of postmenopausal osteoporosis. *Menopause.* 2002;9:84-101.
- 5- Scharbo D.M. Hormone replacement therapy. *Nurse Pract.* 1996;21:1-13.
- 6- Groeneveld F.P., Bareman F.P., Baresen R. Determinants of first prescription of hormone replacement therapy. A follow up study among 1689 women aged 45-60 years. *Maturitas.* 1994;20:81-9.
- 7- Lignieres D.B. Hormone replacement therapy: clinical benefits and side-effects. *Maturitas.* 1996; 23(suppl):S31-6.
- 8- Johannes C.B., Crawford S.L., Posner J.G., Mckinlay S.M. Longitudinal patterns and correlates of hormone replacement therapy use in middle aged women. *Am J Epidemiol.* 1994;140:439-52.
- 9- Ross P.D., Norimatsu H., Davis J.W., Yano K., Wasnich R.D. A comparison of hip fracture incidence among native Japanese, Japanese Americans, and American Caucasians. *Am J Epidemiol.* 1991; 133:801-9.
- 10- Adiercreutz H., Mazur W. Phytoestrogens and Western diseases. *Ann Med.* 1997;29:95-120.
- 11- Glazier M.G., Bowman M.A. A review of the evidence for the use of phytoestrogens as a replacement for traditional estrogen replacement therapy. *Arch Intern Med.* 2001;161:1161-72.
- 12- Love R.R., Barden H.S., Mazess R.B., Epstein S., Chappel R.J. Effects of tamoxifen on lumbar spine bone mineral density in postmenopausal women after 5 years. *Arch Intern Med.* 1994;22: 2585-8.
- 13- Messina M.J. Legumes and soybeans: Overview of their nutritional profiles and health effects *Am J Clin Nutr.* 1999;70(suppl):439s-50s.
- 14- Wangen K.E., Duncan A.M., Merz-Demlow B.E. Effects of soy isoflavones on markers of bone turnover in premenopausal and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85: 3043-48.
- 15- Kuiper G.G., Carisson B., Grandien K. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology.* 1997;138:863-70.
- 16- Arjmandi B.H., Getlinger M.J., Goyal N.V., Alekel I., Hasler C.M. Role of soy protein with normal or reduced isoflavone content in reversing bone loss induced by ovarian hormone deficiency in rats. *Am J Clin Nutr.* 1998;68(suppl):1358s-63s.
- 17- Arjmandi B.H., Birnbaum R., Goyal N.V., Getlinger M.J. Bone sparing effect of soy protein in ovarian hormone-deficient rats is related to its isoflavone content. *Am J Clin Nutr.* 1998;68 (suppl):1364s-8s.
- 18- Register T.C., Jayo M.J., Anthony M.S. Soy phytoestrogens do not prevent bone loss in postmenopausal monkeys. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:4362-70.

- 19- Clarkson T.B., Anthony M.S., Morgan T.M. Inhibition of postmenopausal atherosclerosis. Progression: a comparison of the effects of conjugated equine estrogens and soy phytoestrogens. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 86:41-47.
- 20- Setchell K.D., Brown N.M., Lydeking-Olsen E. The clinical importance of the metabolite equol-a clue to the effectiveness of soy and its isoflavones. *J Nutr.* 2002;132:3577-84.
- 21- Arjmandi B., Khalil D.A., Smith B.J. Soy protein has a greater effect on bone in postmenopausal women not on hormone replacement therapy as evidenced by reducing bone resorption and urinary calcium excretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:1048-54.
- 22- Yamori Y., Moriguchi E.H., Teramoto T., Miura A. Soybean isoflavones reduce postmenopausal bone resorption in female Japanese immigrants in Brazil: A ten week study. *J Am Coll Nutr.* 2002;21:560-63.
- 23- Picherit C., Pelissero C.B., Chanteranne B., Lebecque P. Soybean isoflavones dose-dependently reduce bone turnover but do not reverse established osteopenia in adult ovariectomized rats. *J Nutr.* 2001;131:723-8.
- 24- Uesugi T., Fukui Y., Yamori Y. Beneficial effects of soybean isoflavone supplementation on bone metabolism and serum lipids in postmenopausal Japanese women: a four week study. *J Am Coll Nutr.* 2002;21:97-102.
- 25- Watts N.B. Clinical utility of biochemical markers of bone remodeling. *Clin.Chem.* 1999;45 (8 Pt 2):1359-68.
- 26- Fanti P., Monier-Faugere M.C., Geng Z. The phytoestrogen genistein reduces bone loss in short term ovariectomized rats. *Osteoporosis Int.* 1998; 8:274-81.
- 27- Picherit C., Coxam V., Bennetau-Pelissero C., Kati-Coulibaly S. Daidzein is more efficient than genistein in preventing ovariectomy-induced bone loss in rats. *J Nutr.* 2000;130:1675-81.
- 28- Agnusdei D., Crepaldi G., Isaia G. A double blind, placebo controlled trial of ipriflavone for prevention of postmenopausal spinal bone loss. *Calcif Tissue Int.* 1997;61:142-7.
- 29- Gennari C., Agnusdei D., Crepaldi G. Effect of ipriflavone-a synthetic derivative of natural isoflavones-on bone mass loss in the early years after menopause. *Menopause.* 1998;5:9-15.
- 30- Potter S.M., Baum J.A., Teng H., Stillman R.J. Soy protein and isoflavone: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 1998;68(suppl 6):1375s-79s.
- 31- Alekel D.L., Germain A.S., Peterson C.T., Hanson K.B. Isoflavone-rich soy protein isolate attenuates bone loss in the lumbar spine of perimenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 2000;72: 844-52.
- 32- Barnes S., Phytoestrogens and osteoporosis-What is a safe dose?. *Br J Nutr.* 2003;39:S101-S108.