

September 2021

Rødkløvers anvendelse ved klimakterielle symptomer og udvalgte sideeffekter hos kvinder i klimakteriet

Et litteraturstudium



Forskningstræningshold 50

Michelle Mendieta

Viorica Antohi

Stefanie Ostermann

Vejleder: Annemette Bondo Lind

Indholdsfortegnelse

Baggrund	3
Metode	4
Resultater	6
Kanadys et al 2021	7
Lipovac et al 2012	8
Kanadys et al 2020	9
Luís et al 2018.....	10
Chedraui et al 2008	11
Ferraris et al 2019	12
Powles et al 2008.....	13
Diskussion	15
Konklusion	16
Referencer	17

Baggrund:

85 procent af alle kvinder udvikler menopausale symptomer af varierende sværhedsgrad i forbindelse med de faldende koncentrationer af kvindelige kønshormoner. Det drejer sig om hedeture, blødningsforstyrrelser, atrofiske slimhindeforandringer, humørsvingninger, depression, søvnforstyrrelser, samt led- og knoglesmerter. Det er almindeligt kendt at hormonforandringerne giver øget knogletab og dermed øget risiko for udvikling af osteoporose. Fald i østrogen-niveauet, stigende follikelstimulerende hormon (FSH) og luteiniserende hormon (LH) har imidlertid også en negativ indflydelse på kvinders lipidprofil. Der ses stigning i total-cholesterol, low-density-lipoprotein (LDL), triglycerider (TG) og fald i high-density-lipoproteiner (HDL). Alt sammen medførende accelerering i den arteriosklerotiske proces og dermed øget risiko for kardiovaskulære lidelser og hændelser som hypertension, akut myocardiinfarkt og apoplexi.

Klimakteriet dækker flere faser:

- Præ-menopausen hvor man har regelmæssige blødninger, ingen hedeture.
- Perimenopausen med uregelmæssige menstruationer, vekslende cykluslængde med eller uden hedeture.
- Menopausen betegner den sidste fysiologiske menstruation.
- Postmenopausen, minimum 12 måneder efter sidste menstruation⁽¹⁾

Den systemiske behandling med hormonerapi har tidligere været vidt udbredt på grund af dens lindrende effekt på klimakterielle gener. Dette er også grunden til, at op mod 50 procent af alle kvinder i forbindelse med overgangsalderen, igennem 1990'erne, fulgte denne behandling mod 25 procent i 2017 ⁽²⁾.

Man er i stigende grad blevet opmærksom på uheldige sideeffekter af langvarig hormonerapi (HT) som f.eks. brystkræft og venøs tromboemboli. Der er derfor de senere år kommet større interesse i at finde alternativer til hormonerapi. Af alternativer kan nævnes rødkløver (*Trifolium Pratense*), som er en blomstrende bælgplante. Her udnytter man dennes phytoøstrogener i form af isoflavonerne daidzein, Biochanin A m.fl. Disse bliver igen metaboliseret til equol med mere. Isoflavoner binder til østrogenreceptorer og udviser herved en østrogenlignende effekt. Bindingen er stærkest til beta-receptorerne, i modsætning til østrogenet tilført ved konventionel HT, da dette binder stærkest til alfa-receptorer, som især findes i bryst- og ovarievæv⁽³⁾.

I den kliniske hverdag som praktiserende læge støder man jævnligt på kvinder med klimakterielle gener, som efterspørger alternative behandlingsmuligheder for deres ofte invaliderende symptomer.

Derfor har vi valgt at undersøge nedenstående forskningsspørgsmål:

1. Hvad er rødkløvers effekt på klimakterielle gener? Vi er særligt interesserede i hedeture, da op mod 80 procent af kvinderne med klimakterielle gener oplever disse i varierende grad.
2. Hvad er rødkløvers effekt på lipidprofilen?
3. Er indtagelse af rødkløver sikkert og veltolereret hos kvinder med familiær disposition til eller med brystkræft?

Metode:

Vores undersøgelse er baseret på en struktureret litteratursøgning udført 7. maj 2021. Artiklerne til opgaven er fundet ved søgning i databasen PubMed ved brug af følgende nøgleord: menopause, red clover, trifolium parantese, isoflavoner, fytoøstrogener. Vi endte med følgende sammensætning: "Trifolium" AND "Menopause", som har givet 179 resultater. Blandt disse 179 artikler har vi valgt artikel ⁽⁴⁾ og har anvendt dennes MeSH-ord [MENOPAUSE] AND [Trifolium] og herefter lavet ny søgning hvorved vi frasorterede artikler uden tilgængeligt abstract (n = 63). Ved søgning i MeSH er der risiko for at gå glip af de nyeste studier, hvorfor ovenstående blev suppleret med fritekstsøgning i Pub Med med nøgleordene "Menopause AND Trifolium". Den søgning frembragte 1 artikel af relevans for vores emne (n = 64). De 64 artikler blev screenet på titelniveau. Herfra endte vi, ud fra vores forskningsspørgsmål som angik lipidprofil og klimakterielle gener, med i alt 5 artikler med relevans for vores forskningsspørgsmål. For at afdække forskningsspørgsmålet omhandlende rødkløver og brystkræft foretog vi en ny søgning ud fra MeSH-ordene [breast neoplasm] AND [Trifolium]. Denne søgning har givet 18 artikler, hvoraf 2 artikler, blev udvalgt til videre undersøgelse. Der er således tale om et selektivt review af litteraturen.

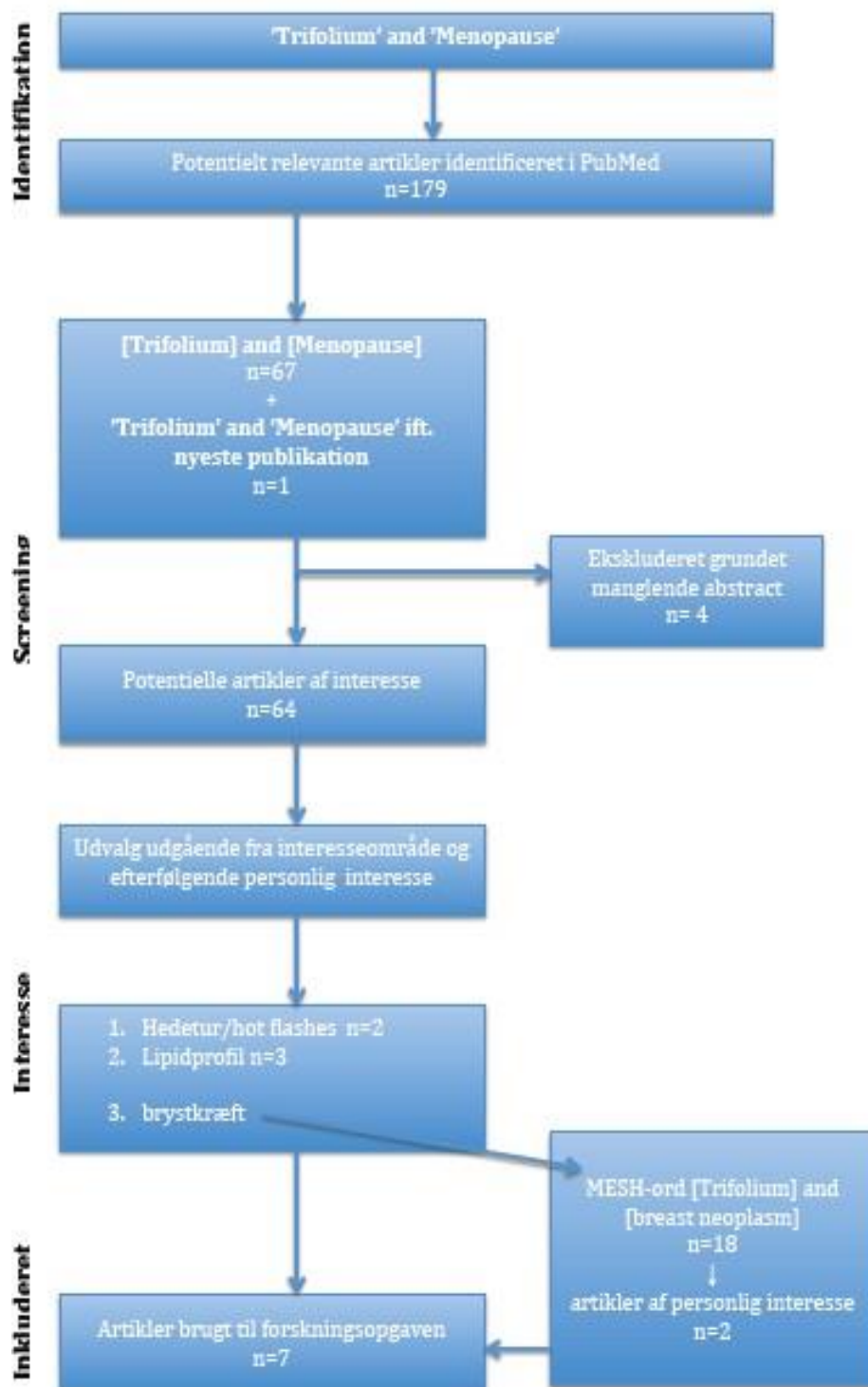
I vores litteratursøgning har vi brugt følgende eksklusionskriterier:

- dyreforsøg
- metabolisk syndrom
- kombination af rødkløver med andre præparater
- Studier der sammenligner rødkløver med andre naturlægemidler og/eller hormonterapi
- Studier baseret på cellereceptorniveau
- Ikke tilgængelige på engelsk
- Abstracts uden tilstrækkelig information
- Fokus på antidepressiv effekt

Vores inklusionskriterier var:

- klimakterielle gener ved menopause deriblandt sved- og hedeture
- effekt af rødkløver isoflavoner på lipidprofil i klimakteriet
- rødkløvers effekt på udviklingen af brystkræft i klimakteriet
- Studier lavet efter år 2000

Fig.1: Flowchart litteratursøgning



Resultater

Ved vores søgning endte vi med nedenstående 7 artikler, som ses i tabel 1.

Tabel 1

FORFATTER, ÅR, LAND	DESIGN, FORMÅL, FOLLOW-UP TID	DELTAGERE	INTERVENTION	RESULTATER
KANADYS, 2021, POLEN	Review, metaanalyse af RCT fra 1999-2020. Vurdering af rødkløver isoflavoners effekt på klimakterielle symptomer N = 12 3 cross-over studier, 9 parallel-design studier	Peri- og postmenopausale kvinder N = 1179	Isoflavon 37,1 til 160 mg/dag	Fald i antal hedeture/dag: WMD - 1,73 hedeture/dag; 95 % CI: -3,28 til - 0,18; p = 0.0292) i interventionsgrupperne sammenlignet med placebogruppen.
LIPOVAC, 2012, ØSTRIG	Randomiseret dobbelt-blindet placebokontrolleret cross-over studie til vurdering af rødkløvers effekt på vasomotorisk og generelle klimakterielle symptomer, 187 dage	Postmenopausale kvinder > 40 år med moderate til svære klimakterielle symptomer	Rødkløver svt. 80 mg isoflavon/dag	Signifikant fald i hedeture, nattesved, generelle klimakterielle symptomer (Kupperman Index) efter 3 måneders rødkløverbehandling.
KANADYS, 2020, POLEN	Review, metaanalyse af tilgængelige RCT indtil juni 2018. Vurdering af evt. ændringer i lipidprofil ved isoflavon-behandling. N= 10 heraf 9 paralleldesign, 1 cross-over-design.	Peri/postmenopausale kvinder N = 1039	Isoflavon 40 til 160 mg /dag	Lille men signifikant fald i total-cholesterol - 0,29 (95 % CI: -0,53 til - 0,06) mmol/L, p-værdi = 0,0136. Efter subgruppeanalyser og frasortering af 2 studier: Totalcholesterol -0,11 (95 % CI: -0,18 til -0,04) mmol/L, p-værdi = 0,0014
LÚIS, 2018, PORTUGAL	Review, metaanalyse af RCT omhandlende rødkløver-isoflavoners effekt på lipidprofil N = 12	Peri- og postmenopausale kvinder n = 1284	Isoflavon 40 til 160 mg/dag	I behandlingsgruppen ses signifikant fald i total-cholesterol, LDL og triglycerider. Stigning i HDL
CHEDRAU, 2008, EQUADOR	Randomiseret dobbelt blindet placebostudie, cross-over, ser på rødkløvers effekt på lipidprofil over 180 dage	Postmenopausale kvinder alder > 40 Gruppe A, n = 31 Gruppe B, n = 22	80 mg isoflavon vs. Placebo, cross-over	Signifikant fald i totalcholesterol, LDL og lipoprotein A på hhv. 4,6 %, 15,6 % og 63, 8 % hos kvinder med BMI >25
FERRARIS, 2019, ITALIEN	Randomiseret dobbelt-blindet placebokontrolleret studie, At vurdere lipidprofil, BMI, livvidde ved brug af rødkløver og om det er sikkert at anvende ift. brystkræft, 24 måneder	88 tamoxifen-behandlede premenopausale kvinder opereret for ER pos. brystkræft Placebo n = 39 Rødkløvergruppe n= 42	Rødkløver svt 80 mg isoflavon Alle deltagere taler med diætist/anbefales middelhavskost	Signifikant øgning i HDL-cholesterol og signifikant fald i BMI, hofter – og livvidde i behandlingsgruppen. Ingen øget risiko for udvikling af brystkræft ved brug af rødkløver
POWLES,, 2008, ENGLAND	Randomiseret dobbelt blindet placekontrolleret studie, Vurdering af om det er sikkert at anvende rødkløver hos kvinder med øget risiko for brystkræft 3 år	401 raske kvinder i alderen 35-70 år med mindst én førstegrads slægtning med brystkræft	40 mg isoflavon/dag (n = 199)	Ingen signifikant øgning i brystkræft-tilfælde i interventionsgruppen

Controlled Trials Evaluation of Clinical Meaningsfullness of Red Clover (*Trifolium pratense*) Extract to Relieve Hot Flushes and Menopausal Symptoms in Peri- and Post-menopausal Woman: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials, W. Kanadys et al, 2021, Polen⁽⁵⁾

Formål: At afklare om et tilskud af rødkløver ekstrakt påvirker menopausale symptomer hos peri- eller postmenopausale kvinder.

Metode: Ved denne metaanalyse blev potentielt relevante randomiserede kontrollerede studier identificeret ved systematisk gennemgang af elektroniske databaser i perioden 1999 til 2020. 107 engelsk-tilgængelige studier blev fundet relevante ud fra relevante søgeord. Inklusionskriterierne var: parallelgruppe-kontrollerede studier (n = 9), cross-over-designs indeholdende baselinedata (n = 3), kontrol med placebo, peri- og postmenopausale kvinder, moderate til svære hedeture (minimum 3 hedeture pr. Dag I minimum to uger før forsøgets), ændringer i frekvensen af hedeture som primære outcome, rapportering af ændringer i generelle klimakterielle symptomer som sekundært outcome. Eksklusionskriterierne: Dobbeltstudier, studievarighed under 12 uger, rødkløver ekstrakt kombineret med andre naturlægemidler, mangel på relevant information og hvis resultater var angivet som grafer eller procentvise ændringer. Til sidst blev 12 randomiserede kontrollerede studier analyseret i metaanalysen. Længden af studierne varierede mellem 12 uger og 2 år og stammede fra 10 forskellige lande. I alt blev 1179 kvinder undersøgt, hvoraf 1043 indgik i slutanalysen. Deltagerantallet varierede mellem 37 og 252 per studie. 8 studier undersøgte kun postmenopausale kvinder, 3 både peri-og postmenopausale kvinder og et enkelt kun perimenopausale kvinder. Gennemsnitsdosis af rødkløver var 65,1 mg/dag, varierende fra 37,1 til 160 mg/d. 8 studier målte det daglige antal hedeture. 10 studier evaluerede forekomst og grad af klimakterielle symptomer ved hjælp af forskellige skalaer. Data blev samlet af hovedskribenten og kontrolleret af medforfatter. $P < 0.05$ blev betragtet som statistisk signifikant. Graden af heterogenicitet blev beregnet og angivet.

Resultater: Sammenligning af de studier som så på antallet af hedeture per dag (n = 8) viste en signifikant reduktion i disse (WMD -1,73 hedeture/dag; 95 % CI: -3,28 til -0,18; $p = 0.0292$) i interventionsgrupperne sammenlignet med placebogruppen. Heterogenitet var høj ($I^2 = 87,34$ %), hvorfor man lavede subgruppeanalyser baseret på menopausal status, observationstid (12 uger til 12 måneder), daglige hedeturefrekvens ($\geq 5 \geq 3$ per dag), total isoflavon-dosis (< 80 mg/dag > 80 mg /dag) og dominerende isoflavontype (Biochanin A, Formononetin). Forskellige ratingsystemer blev brugt for at måle intensitet af klimakterielle symptomer. 3 studier brugte Kuppermann-Index og viste en lettelse af menopausale symptomer ved indtagelse af rødkløver (WMD -12,77; 95 % CI: -23,61 til -1,93; $p = 0,0209$). 6 studier anvendte Green Climatic Scale og kunne ikke vise en effekt af rødkløver på klimakterielle symptomer sammenlignet med placebogruppen. (WMD 0,11; 95 % CI: 0,87 til 1,09; $p = 0,8265$). Et enkelt studie anvendte en anden Menopause Rating Scale (MRS) og viste signifikant reduktion i menopausale symptomer i interventionsgruppen (WMD -6,81; 95 % CI: -9,79 til -3,83; $p = 0.0000$).

Diskussion: Denne metaanalyse viste en signifikant reduktion i daglige antal hedeture hos kvinder, som blev behandlet med rødkløver-ekstrakt sammenlignet med placebogruppe. Også tidligere metaanalyser har vist en positiv effekt af rødkløver (ref. 45-47), dog ikke statistisk signifikant.

I studiet ser man, at kvinderne ved anvendelse af Kuppermann-Index eller Menopause Rating Scale, scorer deres klimakterielle symptomer signifikant lavere end ved brug af Green Climatic Scale. Den manglende reduktion i menopause-symptomer ved brug af Green Climatic Scale kunne underminere den positive effekt af rødkløver ifølge forfatteren. Der skal også tages i betragtning, at antallet af symptomer i skalaerne er forskellige.

Samlet set er det et stort antal kvinder, der undersøges, men enkelte studier er baseret på et lavt deltagerantal, hvilket giver en insufficient vægtning af metaanalysen og de små studier svækker validiteten af resultater og konklusion.

Individuelle forskelle i metabolisering og absorption af rødkløver kan potentielt give forskelle i behandlingsrespons.

Derudover var det svært at bestemme den aktuelle dosis af isoflavoner administreret og absorberet. Heterogenitet var høj ($I^2 = 87,34\%$) baseret på menopausal status, observationstid, daglige hedeturfrekvens, total isoflavondosis og forskelle i isoflavontyper.

Der er blevet taget hensyn til forskellige bias, hvoraf performance- (blinding af deltager og personale) og detektionbias (blinding af effektmål) var lavest, mens rapporteringsbias (sektiv rapportering, for eksempel mangel på rapportering af skadelig virkning) højest.

Man kan heller ikke udelukke en vis grad af publikationsbias, idet kun engelsksprogede foreliggende studier er medregnet.

The effect of red clover isoflavone supplementation over vasomotor and menopausal symptoms in postmenopausal women, M. Lipovac, 2012, Østrig ⁽⁶⁾

Formål: Dette studie undersøger effekten af isoflavoner udvundet ad rødkløver på vasomotoriske og generelle menopausale symptomer hos postmenopausale kvinder.

Metode: I en prospektiv, randomiseret, dobbelt-blindet, kontrolleret forsøg blev 109 postmenopausale østrigske kvinder undersøgt for vasomotoriske og generelle klimakterielle symptomer før og efter behandling med rødkløver eller placebo.

Inklusionskriterierne var: Kvinder som var gået i menopause, 40 år eller ældre, moderat til svære klimakterielle symptomer (Kuppermann Index ≥ 15), mere end 5 hedeture/dag, negativ graviditetstest. Kvinder blev ekskluderet, hvis de modtog hormonerapi og/eller havde hypersensitivitet for isoflavoner.

Deltagerne blev tilfældigt inddelt i 2 grupper: gruppe A (rødkløvergruppe, $n=50$) og gruppe B (placebogruppe, $n=59$). Gruppe A fik 2 kapsler (svt. 80 mg) rødkløver ekstrakt i 90 dage og gruppe B fik 2 kapsler placebo af samme udseende. Efter 7 dages udvaskning skiftedes grupperne, således at gruppe A fik placebo og Gruppe B rødkløverekstrakt i yderlige 90 dage. Det daglige antal af hedeture, natlige svedeture og intensiteten af klimakterielle symptomer (Kupperman Index) blev målt på dag 0, 90, 97 og 187. Blodtryk og BMI blev registreret. Programmet SPSS blev brugt til statistiske analyser og en p -værdi < 0.05 blev betragtet som statistisk signifikant.

Resultater: 109 kvinder afsluttede undersøgelsen, 50 kvinder fra gruppe A og 59 kvinder fra gruppe B. Der var ikke signifikant forskel imellem grupperne ift. Demografiske data som alder, BMI, hysterektomi eller tidligere hormonerapi. Baselinedata iforhold til antal af hedeture, nattesvede og Kupperman-Index var ens i begge grupper (gruppe A: mean 11.7 ± 4.8 ; 5.4 ± 2.5 ; 32.5 ± 10.0 vs. gruppe B: mean 11.0 ± 5.1 ; 5.0 ± 2.8 ; 34.3 ± 10.4).

Alle parametre faldt signifikant i gruppe A efter rødkløver fasen (mean \pm standarddeviation 3.2 ± 3.5 ; 1.5 ± 2.1 ; 8.0 ± 6.9) sammenlignet med placebogruppe B (mean \pm SD 10.1 ± 5.5 ; 5.0 ± 2.6 ; 32.0 ± 13.2). I artiklen angivet som fald i procent (mean% 73.5 ; 72.2 ; 75.4 vs. 8.2 ; 0.9 ; 6.7)- og steg signifikant igen efter udvasknings- og placebo fase i gruppe A (mean 7.8 ; 3.7 ; 21.1 vs. 9.3 ; 4.3 ; 26.5).

I gruppe B var værdierne uændrede efter udvaskningen (mean 10.0 ; 4.8 ; 31.9), men med et signifikant fald efter 3 måneders rødkløver behandling (mean 3.3 ; 1.7 ; 9.7). Ingen bivirkninger, i hverken interventions- eller placebo gruppen, blev registreret.

Diskussion: Studiets størrelse vurderes at være egnet til at kunne drage konklusioner på basis af dets resultater. Studiedesignet er i den høje ende af evidenshierarkiet, og man anvender et standardiseret produkt (ift. dosis og indholdsstof) af rødkløvere ekstrakt, idet nedbrydningen af indholdsstofferne kan have indflydelse på slutresultaterne.

Spørgsmålet er dog om en 7 dages udvaskningsfase er tilstrækkeligt lang tid til at få gruppe A's værdier tilbage til baseline, inden man opstarter placebo, og det ville være interessant at sammenligne resultaterne imellem grupperne.

Derudover er individuelle forskelle som absorption, stofskifte og livsstilsfaktorer ikke blevet undersøgt; disse faktorer kunne teoretisk have indflydelse på det kliniske respons på behandling med rødkløver.

Effects of red clover (*Trifolium pratense*) isoflavones on the lipid profile of perimenopausal and postmenopausal women – A systematic review and meta-analysis, Wieslaw Kanadys et al, 2020, Polen.⁽⁷⁾

Formål: I dette studie ønskedes at bestemme effekten af *Trifolium Pratense*-deriverede isoflavoner på peri- og postmenopausale kvinders lipidprofil.

Metode: Systematisk review og metanalyse baseret på engelsk publicerede, tilgængelige randomiserede kontrollerede studier udarbejdet indtil juni 2018. Man lavede søgninger i MEDLINE, Embase, Cochrane med anvendelse af søgeord menopause, postmenopause, perimenopause, climacterium, red clover, *Trifolium pratense*, isoflavone, Biochanin A, lipids, lipid profile, lipid metabolism, dyslipidemia, i forskellige kombinationer. Et studie blev vurderet egnet til inklusion ud fra kriterierne: parallel eller cross-over design, anvendelse af en standardiseret mængde *T.pratense* (intervention) sammenlignet med placebo- eller ingen interventionsgruppe, opfølgningstid minimum 3 måneder, deltagelse af raske peri- eller postmenopausale kvinder, passende data om lipid-niveauer ved baseline og efter behandling. Studier blev ekskluderet, hvis deltagerne var mænd, præmenopausale kvinder, der var mangel på information eller ingen kontrolgruppe.

107 studier blev fremsøgt, heraf 69 ekskluderet ud efter gennemgang af titel/abstract. 38 studier blev valgt til kvalitativ analyse. Heraf ekskluderede man 28 studier grundet for kort opfølgningstid, irrelevant outcome, mangel på kontrolgruppe, duplikeret artikel. Til sidst havde man 10 udvalgte studier (n = 1039 kvinder), hvoraf man lavede endelig metaanalyse på 910 kvinder. For at sikre kvalitet af studiet, blev søgeprocessen udført af 2 eller flere medlemmer i forskningsgruppen. Man udførte evaluering af risikoen for bias for hvert enkelt studie, dette blev opgjort i høj risiko, lav risiko og ukendt risiko for bias.

Resultater: Indtagelse af isoflavoner medførte reduktion i total-cholesterol på -0,29 (95 % CI: -0,53 til -0,06) mmol/L, p-værdi = 0,0136. LDL -0,13 (95 %CI: -0,35 til 0,09), p-værdi = 0,2418. Triglycerider -0,15 (95 %CI: -0,32 til 0,01) mmol/L, p-værdi 0,0592. For HDL-cholesterol fandt flere af studierne en stigning. Gennemsnittet: 0,14 (95% CI: -0,08 til 0,36) mmol/L, p-værdi 0,2103.

For at udelukke skævvridning af resultaterne fra to af studierne, der adskilte sig fra de øvrige ved at inddrage en regulær diæt i opfølgningstiden, blev disse frasorteret. Der var stor heterogenitet i resultaterne, hvorfor man efterfølgende lavede subgruppe analyse.

Ovenstående ændrede på resultaterne, således at effekten af rødkløver på lipidniveauer blev som følgende: Totalcholesterol - 0,11 (95 %CI: -0,18 til -0,04) mmol/L, p-værdi 0,0014 ; LDL-cholesterol 0,00 (95 % CI -0,12 til 0,13) mmol/L, p-værdi 0,9693; HDL-cholesterol 0,04 (95 % CI: 0,01 til 0,07), p-værdi 0,0127 og triglycerider - 0,04 (95 % CI: -0,15- 0,07), p-værdi 0,5060.

Diskussion: Metaanalysen finder en lille, men statistisk signifikant, gunstig effekt af rødkløver på peri- og postmenopausale kvinders lipidprofil. Dette på trods af flere åbenlyse problematiske faktorer. Der er f.eks. en relativ stor heterogenitet i antal deltagere, follow-up tid, dosis og form af det aktive stof. Flere af studierne er små med lille mængde data, hvilket kan medføre en underestimering af en effekt. Man har heller ikke taget højde for de individuelle forskelle, der kan være i evnen til at metabolisere isoflavonerne. Personer som er langsomme eller "dårlige" til at metabolisere isoflavonerne, vil ikke kunne opnå samme effekt heraf, hvilket vil medføre en underestimering af en evt. effekt.

Studiet finder initialt et fald i total-cholesterol på -0,29 mmol/L, men udelukker herefter 2 af studierne, idet de metodemæssigt adskiller sig markant fra andre. Hermed justeres resultatet, så man får en reduktion i total-cholesterol på - 0,11 (lavere effekt end først antaget).

Sidstnævnte inddrages dog ikke i den endelige diskussion, hvilket er misvisende og svækker studiets interne validitet.

Det er uigennemskueligt, hvilket antal studier og data, de reelt anvender i metaanalysen.

Man udsættes som læser for misinformation, når man gennemgår artiklens referenceliste, idet nummereringen ikke stemmer overens med artiklens tabel 1, som er en oversigt over de forskellige artikler.

Effects of red clover on perimenopausal and postmenopausal women's blood lipid profile: A meta-analysis A. Luís et al, 2018, Portugal⁽⁸⁾

Formål: Ved en metaanalyse at afklare rødkløvers effekt på lipidprofil hos peri- og postmenopausale kvinder.

Metode: En systematisk litteraturgennemgang blev udført i databaserne PubMed, Web og Science, Scopus, SciELO og Cochrane Library i 2017.

To forfattere gennemførte, uafhængigt af hinanden, udvælgelse af relevant litteratur, og en tredje forfatter blev konsulteret i tilfælde af uoverensstemmelser.

Studierne skulle opfylde følgende kriterier: Randomiserede undersøgelser (RCT), have en kontrolgruppe, skulle indeholde resultaterne ved baseline og endeligt outcome samt standard deviationer for resultaterne.

74 artikler blev screenet hvoraf 18 RCT'er, blev fundet relevante. Til sidst opfyldte 12 af studierne alle inklusionskriterierne og indgik i denne metaanalyse. Samlet set blev 1284 peri- og postmenopausale kvinders data analyseret. De fleste RCT'er blev udført i Australien i perioden 1999-2015.

Relevant outcome var lipidprofil (total-cholesterol, LDL-, HDL-cholesterol og triglycerider), og man lavede også subgruppeanalyse, hvor man vurderede hvorvidt varighed af behandling (26, 52, 78 uger; og 16, 32 og 52 uger) og behandlingsdosis (40 og 160 mg/dag; 40 og 80 mg/dag; 57,2 og 82 mg/dag) samt BMI (<25 eller > 25 kg/m²) havde en indflydelse på slutresultatet. Heterogeniteten mellem undersøgelser blev testet ved statistisk analyse (I^2).

Resultater: Evalueret outcome var total-cholesterol (TC), LDL, HDL og triglycerider(TG)

Total-cholesterol hos 1209 kvinder blev signifikant reduceret efter indtagelse af rødkløver (WMD= -12,34 mg/dl; 95% CI: -18,21, -6,48; p < 0,001). Heterogeniteten var høj ($I^2=69,01$ %).

HDL- værdierne forelå for 1226 kvinder og var signifikant højere i interventionsgruppen sammenlignet med placebogruppen (WMD= 1,60 mg/dl; 95% CI: 0,17, 3,03; p 0,03). Forskellene mellem studierne var lav ($I^2=23,16$ %). LDL-værdier fra 1209 kvinder viste en signifikant nedsættelse af LDL-niveauet hos deltagere behandlet med rødkløver ift. kontrolgruppen (WMD= -10,61 mg/dl; 95% CI: -15,51, -5,72; p<0,001).

Triglycerider faldt signifikant hos menopausale kvinder blandt de 1235 undersøgte (WMD= -10,18 mg/dl; 95% CI: -16,23, -4,13; p 0,001).

Subgruppeanalyserne fandt ikke noget forhold mellem behandlingsvarighed og den metaboliske profil. I forhold til behandlingsdosis fandt man statistisk signifikant fald på total-cholesterol og

triglycerider i alle subgrupper bortset fra doser 50-58 mg/dag. En dosis på 40 mg isoflavon/dag forbedrede HDL og LDL-niveauerne hos peri- og postmenopausale kvinder.

Diskussion: Studiet bekræfter at indtagelse af rødkløver hos peri- og postmenopausale kvinder resulterer i et signifikant fald i TC, LDL-C og TG sammen med en signifikant stigning i HDL-C. Desuden ser det ud til, at doser på 40 mg isoflavon er tilstrækkeligt til at forbedre lipidprofilen. Undersøgelsen baserer sig på et stort antal kvinder og dermed en stor mængde data, som gør konklusionerne valide. Dog er der stor variation i størrelsen af de enkelte studier, som kan have indflydelse på metaanalysens udfald. I fremtidige metaanalyser ville det være en fordel at inddrage større studier. Det er også en styrke, at der udføres subgruppeanalyser i et forsøg på at tage højde for den varierende heterogenitet.

En af ulemperne ved denne metaanalyse er, at de fleste studier blev finansieret eller sponsoreret af farmaceutiske virksomheder med en interesse i det undersøgte produkt. Derudover var en enkel undersøgelse ikke blindet, hvilket giver høj risiko for performance- og selektionsbias. I nogle studier var selve randomiseringsprocessen uklar. Den nøjagtige virkningsmekanisme for rødkløver er endnu ikke helt forstået. Der er behov for yderlige molekylære undersøgelser for bedre at forstå virkningen af rødkløver på lipidprofil.

Effect of Trifolium pratense-derived isoflavones on the lipid profile of postmenopausal women with increased body mass index, Peter Chedraui et al, 2008, Ecuador⁽⁹⁾

Formål: At vurdere effekten af T.pratense derivede isoflavoner på lipidprofilen hos overvægtige postmenopausale kvinder.

Metode: Der er tale om et prospektivt randomiseret dobbelt-blindet placebo-kontrolleret studie udført juli 2003 til august 2004. 60 postmenopausale kvinder blev rekrutteret ud fra kriterierne: alder > 40 år, mere end 12 måneder siden sidste menstruation og FSH i blod > 30 mIU/ samt ingen brug af HT og Kupperman index ≥ 15 . BMI, blodtryk og lipidprofil (total-cholesterol, triglycerider, HDL, LDL og lipoprotein A) blev registreret ved baseline, 90 og 180 dage. BMI over 25 kg/m² blev anset som overvægt. Eksklusionskriterier var manglende lyst til at tage behandling, kvinder med stofskifte lidelse eller behandling med præparater som kunne have en indflydelse på lipidprofil, f.eks. isoflavoner og hormonerterapi.

Deltagere blev tilfældigt inddelt i to grupper, gruppe A (n=31) og gruppe B (n=22). Man fandt ingen signifikant forskel imellem grupperne på baselinekarakteristika såsom alder, BMI, diabetes, hypertension, civilstand, tidligere hysterektomi eller uddannelse.

Initialt skulle den ene gruppe indtage 2 kapsler rødkløver sv.t. 80 mg isoflavon, mens den anden gruppe indtog 2 kapsler med placebo. Kapslerne var udseendemæssigt identiske og indholdet blindet for både deltagere og behandlere.

Efter 90 dage med denne behandling og 7 dages medicinfri periode, byttede grupperne imellem behandlingsformerne.

Man udtog 15-20 ml blod fra hver deltager på de ovenfor nævnte tidspunkter. Ved at analysere disse fik man: total-cholesterol, LDL, HDL, triglycerider og lipoprotein A i mg/dl. Resultaterne fremgår som gennemsnit og standard deviationer eller hyppighed og procent. Ved sammenligning af kontinuerte og kategoriske data anså man en p-værdi under 0,05 som statistisk signifikant.

Resultater: 7 personer udgik af studiet (11,7 %), 2 pga. bivirkninger (en i interventionsgruppen og en i placebogruppen) og for 5 personer var der ikke oplyst en årsag.

Man analyserede lipidprofilerne for gruppe A og B, men man lavede også en analyse af lipidprofilerne fordelt på overvægtige og normalvægtige kvinder, for at se om BMI i sig selv gjorde en forskel på resultatet (dvs ændring i lipidprofil). Overvægtige kvinder havde ved baseline højere niveauer af triglycerider end ikke-overvægtige kvinder (217,6 \pm 82,7 vs. 164,7 \pm 53,6). Niveaulet faldt efter isoflavon-behandling, men var ikke statistisk signifikant.

Man fandt statistisk signifikant reduktion i total-cholesterol, LDL og lipoprotein A –niveauer med hhv. 4,6 %, 15,6 % og 63, 8 % hos overvægtige kvinder.

Diskussion: Et randomiseret dobbelt-blindet studie vil traditionelt rangere højt i evidenshierarkiet; dog er det her et lille studie (n = 53), hvorfor risikoen for at overse en effekt af intervention bliver høj. Studiets resultater viser, at behandling med rødgløder har en gunstig effekt på lipidprofilen hos overvægtige kvinder. Dog har man ikke vurderet, om der er andre faktorer, end isoflavon-indtaget, der kan have medvirket til ændringerne i deltagerens lipidprofil. Man kan ikke udelukke, at blot det at deltage i studiet kan have motiveret især overvægtige deltagere til at ændre kost og motionsmønster.

Man har ikke set på om isoflavoner metaboliseres anderledes (bedre) hos kvinder med overvægt end ikke-overvægtige.

En anden svaghed i studiet er, at man ikke ser på deltagerens rygestatus i studieforløbet, idet rygning er kendt for at påvirke lipidprofilen i negativ retning og accelererer udvikling af arteriosklerose. Det fremgår f.eks. ikke om nogle af deltagerne stopper eller på anden vis ændrer rygevaner. Fremtidige studier kan med fordel forsøge at differentiere imellem livsstilsprofiler hos deltagerne.

I forlængelse af ovenstående vil forskelle i etnicitet/kultur også være en faktor, som kan påvirke resultaterne i et forskningsstudie. Livsstilssygdomme og tilgang til sundhedstilbud vil ofte være skævt fordelt i en befolkning, og man ser flere steder i verden, at f.eks. de indfødte befolkninger i Australien, Grønland, Latin Amerika mv. sundhedsmæssigt ligger dårligere end øvrige befolkningsgrupper. Man må dog formode at studiepopulationen i et lille studie fra Ecuador vil være relativt homogen ift. etnicitet, idet 71 procent af landets befolkning er "mestizoer"; dvs. blanding af indfødte og hvide europæere.

Redclover and lifestyle changes to contrast menopausal symptoms in premenopausal patients with hormone-sensitive breastcancer receiving tamoxifen, C. Ferraris et al , 2019, Italien⁽¹⁰⁾

Formål: Der er tale om et randomiseret dobbelt-blindet klinisk forsøg, hvor primære endpoints var at afklare om rødgløder havde effekt på klimakterielle gener hos kvinder i tamoxifenbehandling mod brystkræft. Derudover at vurdere om der var positive ændringer på vægt og insulinfølsomhed. Sekundære endpoints var at vurdere sikkerheden ved brug, vurderet ved brystvæv densitet, endometrietykkelse samt effekten på serum udtaget fra rødgløder-behandlede kvinder (kombineret med tamoxifen) på ER-positive brystkræftceller.

Metode: 88 kvinder opereret for brystkræft og efterfølgende tamoxifen- behandlet blev randomiseret til enten at indtage 80 mg isoflavoner eller placebo i 24 måneder. Inklusionskriterierne var: histologisk verificeret operabel ER – positiv brystkræft, normal ovariefunktion, Menopause Rating Scale > 8, ingen recidiv eller fjernmetastaser. Både patienter og personale var blindet ift. behandling (placebo vs. isoflavon-behandling). Livsstilinterventionen bestod i en diætistsamtale en gang om måneden de første seks måneder; herefter hver 3. måned. Her skulle deltagerne besvare et spørgeskema med angivelse af forbruget af sund/usund mad samt mængden af fysisk aktivitet de sidste 7 dage. Deltagerne blev opfordret til at indtage fedtfattig mad med lavt glykæmisk index samt middelhavskost med meget fisk og nødder.

Ved baseline og ved 24 måneder fastlagde man: faste-blodglucose, fastende insulin-niveau, lipidprofil (total-cholesterol, LDL, HDL og triglycerider), estradiol, testosteron, DHEAS, BMI, livvidde og hoftavidde.

Også endometrietykkelse og brystdensitet blev vurderet ved hhv. UL og mammografi. Effekten på klimakterielle gener blev evalueret ved Menopause Rating Scale (MRS) hver 3. måned det første år, herefter hver 6. måned. Man lavede in vitro undersøgelser for at bestemme om isoflavontilførsel bidrog til celledeling. Dette blev udført ved at tage serum fra 16 kvinder i

behandlingsgruppen, 16 kvinder fra placebogruppen og 4 raske postmenopausale kvinder (ingen behandling eller placebo). ER-sensitive brystkræftceller, blev inkuberet med serum hvorefter man undersøgte, om der var forskel i cellernes genekspression og celledeling afhængig af hvilken serum, cellerne var inkuberet med. Studiet fandt ingen signifikant forskel i om inkubation var sket med serum fra raske kvinder eller kvinderne i behandlings- eller placebogruppen. Resultaterne udkom i gennemsnit med standard deviationer eller hyppighed. Forskelle mellem grupperne blev anset som signifikante ved p-værdi < 0,05.

Resultater: For begge grupper sås statistisk signifikant reduktion i klimakterielle gener efter 24 måneder.

Placebogruppen: MRS 20,6 (6,6) ved baseline og 8,1 (5,9) efter 24 måneder p-værdi < 0,001 og for behandlingsgruppen: 21,2 (5,8) ved baseline vs. 9,1 (5,4) efter 24 måneder; dog var der ikke signifikant forskel imellem grupperne, tydende på ingen forskel på om man anvendte rødkløver eller ikke. Man så signifikant øgning i HDL-cholesterol efter 24 måneder for begge grupper, men størst for behandlingsgruppen: HDL kolesterol (mg/dl) for placebogruppen 77.30 (25.5) og 79.8 (22.3) ved hhv. baseline og 24 måneder. For behandlingsgruppen var det 71.0 (19.30) mod 78.6 (21.5), p-værdi 0.0097. Man fandt ikke signifikante ændringer i øvrige lipider eller hormon-niveauer.

Man fandt statistisk signifikant forskel i BMI, livvidde og hoftevidde i behandlingsgruppen: BMI (kg/m²) for placebogruppen ved hhv. baseline og 24 måneder på 23.45 (3.94) og 23.14 (3.07) versus 24.49 (5.25) og 22.95 (4.23) for behandlingsgruppen, p-værdi < 0,001.

Livvidde (i cm) for placebogruppen ved baseline og 24 måneder på hhv. 77.3 (9.7) og 75.8 (8.3), mens det for behandlingsgruppen lå på 78.3 (10.9) og 74.8 (9.4) p-værdi < 0.0001

Man fandt ingen signifikant øgning i brystdensitet (BI-RADS) 2.8 (0.9) og 2.5 (0.9) for placebogruppen ved hhv. baseline og 24 måneder mod behandlingsgruppens 2.8 (0.9) og 2.5 (0.9).

Ved in vitro-undersøgelserne fandt man heller ikke signifikant ændring i celledeling.

Diskussion: Studiets styrke er dets design i form af et randomiseret, placebo kontrolleret studie, der ligger højt i evidenshierarkiet. En opfølgningstid på 24 måneder er relativt lang tid. Det er dog et lille studie med få deltagere med øget risiko for at underestimere eller overse en effekt af interventionen. Man undersøgte to interventioner samtidig, nemlig livsstilsændring og isoflavon-indtag. Dette gør det vanskeligt at konkludere på, hvad det er, som reelt har effekt, hvilket må ses som en svaghed i dette studie. Forfatterne selv konkluderer dog i slutningen af artiklen, at isoflavon-behandling er associeret med reduceret BMI og livvidde, hvilket må tages med forbehold jf. ovenstående. Man kan mistænke, at ændringer i BMI og livvidde i stedet skyldes livsstilsændringerne, og at man ikke i tilstrækkelig grad har taget højde for confounding. Opfølgningstiden er på 24 måneder. Man kan altså ikke ud fra dette studie konkludere om der findes negative langtidseffekter af behandling, der strækker sig ud over de 24 måneder. Det viser, at der stadig er behov for yderligere forskning i emnet, inden man med sikkerhed kan anbefale rødkløver til kvinder med tidligere brystkræft.

Red clover isoflavones are safe and well tolerated in women with a family history of breast cancer, T. Powles et al, 2008, England⁽¹¹⁾

Formål: Det primære formål var at vurdere virkningen af 40 mg rødkløver isoflavon supplement eller placebo til raske kvinder med en forhøjet risiko for brystkræft.

Sekundære mål var at evaluere virkningerne af et 40 mg isoflavon tilskud eller placebo på bone mineral density (BMD), knoglemarkører, serumlipider, endometrietykkelse (kun postmenopausale kvinder) og brystdensitet.

Metode: Raske kvinder i alderen 35-70 år (n = 401) med mindst én førstegrads slægtning med brystkræft modtog rødkløver isoflavoner eller placebo i tre år i et randomiseret, dobbeltblindt, placebokontrolleret pilotforsøg. Eksklusionskriterier var: gravide eller ammende kvinder; de der tager orale svangerskabsforebyggende midler eller hormonterapi, kvinder med en tidligere historie med ikke-invasiv eller invasiv brystkræft eller anden malignitet undtagen basalcellecarcinom eller livmoderhalskræft in situ. Desuden blev kvinder med vasomotoriske symptomer også ekskluderet på grund af det mulige behov for hormonterapi i opfølgningstiden. Deltagerne blev vurderet klinisk, og der blev taget blodprøver til biokemisk analyse hver 6. måned. Derudover gennemgik deltagerne mammografi, vurdering af BDM og transvaginal ultralyd (kun postmenopausale kvinder) 1 gang om året. Eventuelle bivirkninger blev vurderet. Rødkløver isoflavoner blev leveret som et standardiseret kosttilskud indeholdende ekstrakt fra rødkløver svt. 40 mg isoflavon.

Resultater: Af de 401 randomiserede kvinder var 320 premenopausale, 20 perimenopausale eller med usikker menopausal status og 61 var postmenopausale. Heraf udgik 18% (n = 73) fra studiet. 16 kvinder stoppede, fordi de krævede hormonterapi; 14 på grund af toksicitet, 8 fordi de udviklede kræft og 6 af andre grunde (figur 1). I alt afsluttede 284 (71 %) kvinder 3 års behandling. Ændringer i brystdensitet fra baseline blev vurderet ved 1,2 og 3 år vha. mammografier udført i de fleste tilfælde på begge bryster. Dog var tilslutningen til opfølgende mammografier faldende i opfølgningstiden. Der var forskel i antal af brystkræfttilfælde i studiegruppen (n = 8) ift. baggrundsbefolkningen (4,6), men forskellen var ikke statistisk signifikant, p-værdi 0,8. Der var ingen signifikant forskel i antallet af kvinder, der udviklede kræft mellem behandlings- og placebogruppen (3 vs. 5). Der blev ikke påvist signifikant forskel i brystdensitet hverken i præ- peri- eller postmenopausalgrupperne eller ud fra mammografierne ved 1, 2 eller 3 år sammenlignet med baseline. Der vises heller ikke signifikant forskel i endometrietykkelse, serumkolesterol, follikelstimulerende hormonniveau og knoglemineraltæthed mellem dem, der tog rødkløver-isoflavoner eller placebo. Bivirkningsprofilen var ens for alle grupper.

Konklusion: I denne tre-årige undersøgelse konkluderer forskerne, at behandling med rødkløver-isoflavoner er sikker og veltolereret hos raske kvinder. Kosttilskud indeholdende isoflavoner fra rødkløver påvirkede ikke brystdensiteten, knogletæthed eller kardiovaskulær status negativt. Hos postmenopausale kvinder blev endometrie-status ikke påvirket negativt. Bivirkningsprofilen og endokrinologisk status var ens for behandlings- og placebogruppen.

Diskussion: Studiemetoden (RCT) anses for at være en styrke, da der er tale om et randomiseret, dobbelt blindet studie, hvorved man prøver at tage højde for forskellige confoundere. Derudover følges deltagerne i en periode på tre år, hvilket er en forholdsvis lang opfølgningstid. På denne måde er det muligt at evaluere effekt og risici ved indtagelse over flere år. Ovenstående studie viser at det er sikkert at anvende rødkløver hos kvinder med høj risiko for brystkræft.

Svagheder i studiet: At man ikke har fyldestgørende mammografi-resultater for alle deltagere ved 1, 2 og 3 år. At en overvægt af kvinderne var præmenopausale, hvilket kan medvirke til at give misvisende resultater.

At man ikke i studiet tager stilling til andre potentielle risikofaktorer f.eks. tobaksrygning eller tidligere hormonterapi.

Diskussion

Vores studie udspringer af et ønske om på et evidensbaseret grundlag at kunne rådgive vores patienter om rødkløverbehandling i menopausen til behandling af klimakterielle gener. Vores fokusområder dækker en bred vifte af mulige forespørgsler fra de afficerede kvinder om rødkløvers effekt og mulige risici.

Vi har ikke udført et systematisk litteraturstudie, men i stedet en selektiv litteraturgennemgang. Her valgte vi at dykke ned i enkelte studier, som vi fandt interessante for vores forskningsspørgsmål. Derfor vil vores studie ikke være fyldestgørende for alt foreliggende litteratur på området.

Studiet er baseret på få studier (n = 7).

Da der iblandt vores udvalgte litteratur findes 3 nyere metaanalyser fra hhv. 2018, 2020 og 2021, baseret på en systematisk udvælgelse af litteratur, må vores viden på området betragtes som værende opdateret. Det skal dog nævnes, at metaanalyserne af W. Kanadys et al er delvist baseret på samme studier, hvilket giver en vis grad af selektionsbias. Herudover er der kun søgt på engelskpubliceret litteratur udgivet efter år 2000, hvilket yderligere øger risikoen for selektionsbias. De resterende fire studier er randomiserede placebokontrollerede undersøgelser, som traditionelt anses for at være af høj evidensmæssig kvalitet.

Ud fra dette litteraturstudie ser det ud til at isoflavoner udvundet af rødkløver har en statistisk og klinisk signifikant effekt på klimakterielle gener som hedeture. For eksempel finder man i studierne af Kanadys et al, Lipovac et al, en signifikant effekt på reduktion i intensitet og antal hedetur pr. dag.

Der er i flere af studierne fundet statistisk signifikant effekt på lipidprofilen, men ændringerne i lipidprofil hos Kanadys et al og Lúis et al er så små, at de klinisk ikke har den store betydning. I modsætning til dét, finder Chedrau et al et statistisk og klinisk signifikant fald i total-cholesterol, LDL og Lipoprotein A hos overvægtige kvinder.

På grund af de divergerende resultater vil vi fortsat anbefale lipidsænkende medicin ved behandlingskrævende dyslipidæmi.

Fokusområdet vedrørende brystkræft og rødkløver er kun baseret på to kliniske forsøg. Her fandt man ikke øget risiko for udvikling af brystkræft hos raske kvinder med øget risiko for brystkræft eller hos kvinder med ER-positiv brystkræft i tamoxifen-behandling. På baggrund af den sparsomme litteratur, kan vi ikke anbefale brugen af rødkløver hos denne patientkategori. Man fandt ikke øget brystdensitet hos kvinderne i studierne af Ferraris et al og Powles et al efter to og tre års opfølgningstid. På den baggrund vurderer vi, at det er forsvarligt at forsøge rødkløverbehandling forud for evt. hormonterapi, hvis dette efterspørges hos patienterne.

Vores litteraturgennemgang har vist flere svagheder i flere af studierne. Man tager f.eks. ikke livsstilsfaktorer som rygning, alkohol og motion i betragtning.

Studierne anvender forskellige doseringer, varighed af rødkløverbehandling og opfølgningstid. Det gør det vanskeligt at opnå entydige resultater.

Nogle punkter hvormed kvaliteten kan forbedres vil være at øge antallet af studiedeltagere, og at anvende samme type spørgeskemaer til symptomvurdering, og tage højde for livsstilsfaktorer. Yderligere studier er nødvendige for at undersøge, hvad der er optimal dosis og behandlingstid af rødkløver for at opnå den bedst mulige effekt. Det vil desuden være relevant, at man i fremtidige studier også fokuserer på absorption og metaboliseringen af rødkløvers indholdsstoffer, da dette måske kan være med til at forklare forskelle i studieresultaterne.

Konklusion

Vi kan konkludere, at rødgløver lindrer klimakterielle gener, såsom hedeture, hos mange kvinder. Hvis man udelukkende ser på dette symptom, vil rødgløver være et udmærket alternativ til at behandle hedeture.

Men vil man besvare spørgsmålet om sikkerheden ved brug af rødgløver hos patienter disponerede til eller med brystkræft, vil det kræve flere uddybende studier, og indtil disse foreligger, vil vi ikke anbefale rødgløver til denne patientkategori.

Man har set en gunstig effekt på lipidprofilen; dog er den kun af lille klinisk betydning. Derfor vil vi stadig anbefale konventionel lipidsænkende medicin som førstevalg ved behandlingskrævende dyslipidæmi.

Referencer

- 1) Ditte Trolle et al (25. juli 2019)
<https://www.sundhed.dk/sundhedsfaglig/laegehaandbogen/gynaekologi/tilstande-og-sygdomme/diverse/klimakteriet/>
- 2) Thomas Benjamin Aaen et al (20.marts 2017). Dansk selskab for Obstetrik og Gynækologi. Hentet fra Dansk Selskab for Obstetrik og Gynækologi:
https://static1.squarespace.com/static/5467abcce4b056d72594db79/t/59419baf725e253851a0be64/1497471926097/CVD_HT_endelige_EL_LH+%281%29.pdf
- 3) Anja Olsen et al. (3. December 2018). Kosttilskud med planteøstrogener. *Ugeskrift for Læger*, s. Ugeskr Læger 2018;180:V04180286.
- 4) Ghazanfarpour, M.; Sadeghi, R.; Roudsari, R.L.; Khorsand, I.; Khadivzadeh, T.; Muoio, B. Red clover for treatment of hot flashes and menopausal symptoms: A systematic review and meta-analysis. *J. Obstet. Gynaecol* 2016, 36, 301. [CrossRef] [PubMed]
- 5) Wiesław Kanadys 1, A. B.-D. (April 2021). Evaluation of Clinical Meaningfulness of Red Clover (*Trifolium pratense* L.) Extract to Relieve Hot Flushes and Menopausal Symptoms in Peri- and Post-Menopausal Women: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Nutrients* , 13(4):1258.
- 6) Markus Lipovac 1, P. C. (March 2012). The effect of red clover isoflavone supplementation over vasomotor and menopausal symptoms in postmenopausal women. *GynecologicalEndocrinology* , 28(3):203-7.
- 7) Wieslaw Kanadys 1, A. B. (February 2020). Effects of red clover (*Trifolium pratense*) isoflavones on the lipid profile of perimenopausal and postmenopausal women-A systematic review and meta-analysis. *Maturitas* , 132:7-16.
- 8) Á Luís 1, F. D. (October 2018). Effects of red clover on perimenopausal and postmenopausal women's blood lipid profile: A meta-analysis. *Climacteric* , 21(5):446-453.
- 9) Peter Chedraui 1, G. S. (November 2008). Effect of *Trifolium pratense*-derived isoflavones on the lipid profile of postmenopausal women with increased body mass index. *Gynecological endocrinology* , 24(11):620-4.
- 10) Cristina Ferraris 1, B. B. (February 2020). Red clover and lifestyle changes to contrast menopausal symptoms in premenopausal patients with hormone-sensitive breast cancer receiving tamoxifen. *Breast cancer research and treatment* , 180(1):157-165.
- 11) Trevor J Powles 1, A. H. (March 2008). Red clover isoflavones are safe and well tolerated in women with a family history of breast cancer. *Menopause international* , 14(1):6-12.