

The effects of vitex agnus castus extract and interaction with bromocriptine on luteinizing hormone and testosterone in male mice

S.Nasri, PhD¹ Sh.Orian, PhD² A.Haeri Rohani, PhD³ Gh.Amin, PhD⁴
M.A.Naghizadeh, MSc⁵.

Assistant professor, Department of Biology, Azad Eslami University Parand branch¹ Full professor, Department of Biology Training & Education University of Tehran² Full professor, Department of physiology, Tehran University³, Assistant professor, Department of pharmacogenozy, Tehran University of Medical Sciences⁴, Master of Hematology, Oroomieh Blood Transfusion Organization⁵.

ABSTRACT

Introduction: Several clinical studies have confirmed the beneficial effect of plants extracts in the treatment of disorders. The purpose of this study was to evaluate the probable effects of vitex agnus-castus (VAC) on the male reproductive physiology, and also the dopaminergic agonist (Bromocriptine) on male mice.

Methods: In this experimental study, in order to evaluate, the medicinal effects of vitex agnus castus, we used the hydroalcoholic VAC. Extract injection with the following doses: 65, 165, 265,365 and 465 mg/kg; bromocriptine as a dopamine agonist receptor (5,10,20 mg/kg). To study the interaction between VAC. Extract and bromocriptine, we injected the optimum doses of VAC. with bromocriptine at the same time. Intraperitoneal injections were applied in all experiments, once a day for 30 days. The control group remained intact and the sham group received vehicle. After the last injection, we collected the animal blood serums for hormonal assays. For statistical analysis, analysis of variance was used and $P < 0.05$ was considered significant.

Results: LH and testosterone showed significant decrease in bromocriptine group. VAC. Extract decreased significantly the LH and Testosterone levels. The coadministration of VAC. Extract and bromocriptine decreased LH and testosterone.

Conclusion: These results suggest: Dopamine regulates the gonadotroph - Leyding cells axis. It appears that VAC. Extract effects through dopaminergic system and other pathways.

Key words: Mice - LH - Testosterone - Bromcriptine

Correspondence:

S.Nasri, PhD.

Department of Biology

Azad Eslami University

parand branch

Tehran, Iran

Tel: +98 21 8283777

Email:

S_nasri2000@yahoo.com

تأثیر عصاره میوه گیاه پنج انگشت و تداخل آن با بروموکریپتین بر میزان هورمون لوتئینی و تستوسترون در موش سوری نر

دکتر سیما نصری^۱ دکتر شهربانو عریان^۲ دکتر علی حائری روحانی^۳ دکتر غلامرضا امین^۴ مختارعلی تقی‌زاده^۵
۱ استادیار گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند ۲ استاد گروه زیست‌شناسی دانشگاه تربیت معلم تهران ۳ استاد گروه فیزیولوژی
دانشیار گروه فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران ۴ کارشناس ارشد هماتولوژی، سازمان انتقال خون ارومیه

مجله پزشکی هرمزگان سال نهم شماره دوم تابستان ۸۴ صفحات ۱۱۷-۱۲۳

چکیده

مقدمه: به دلیل عوارض بی‌شمار ناشی از مصرف داروهای مصنوعی، امروزه در کشورهای مختلف توجه زیادی به استفاده از داروهای گیاهی شده است. پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی میوه گیاه پنج انگشت (*Vitex Agnus Castus*) (VAC) که در کشورهای مختلف مصرف دارویی دارد و همچنین بروموکریپتین و تداخل آن با میوه گیاه مذکور بر میزان هورمون‌های لوتئینی (LH) و تستوسترون در موش سوری نر انجام شده است.

روش کار: در این مطالعه تجربی عصاره هیدروالکلی گیاه با دوزهای ۶۵، ۱۶۵، ۲۶۵، ۳۶۵، ۴۶۵ و بروموکریپتین نیز در دوزهای ۵، ۱۰، ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر ۶۴ موش سوری نر بالغ تجویز شد. بعلاوه، موثرترین دوز عصاره گیاهی و بروموکریپتین نیز مورد استفاده قرار گرفت. داروها به صورت داخل صفاقی و به مدت سی روز تجویز شدند. هر گروه شامل ۶ موش بود. در آخرین روز تزریق حیوانات بی‌هوش شدند و خون آنها از طریق سیاهرگ باب کبدی جمع‌آوری گشت و سپس میزان هورمون‌های LH و تستوسترون در سرم خون حیوانات به روش رادیوایمونواسی سنجش شد. بررسی آماری با استفاده از آنالیز واریانس صورت گرفت و $P < 0.05$ معنی‌دار تلقی شد.

نتایج: عصاره میوه گیاه پنج انگشت سبب کاهش میزان هورمون‌های LH و تستوسترون نسبت به گروه کنترل و شاهد شد که بیشترین کاهش در دوز ۳۶۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده گشت. بروموکریپتین به تنهایی سبب کاهش این دو هورمون شد و بیشترین کاهش در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده شد. تداخل این دو نیز منجر به تشدید اثر هر کدام به تنهایی گشت.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که یکی از راه‌های تأثیر عصاره مسیره‌های دویامینی بوده است، اما با توجه به نتایج حاصل، بنظر می‌رسد که عصاره از طرق دیگر نیز می‌تواند اثرات مہاری خود را بر محور هیپوفیزگناد بگذارد که نیاز به مطالعه بیشتر را دارد.

کلیدواژه‌ها: موش نر - LH - تستوسترون - بروموکریپتین

نویسنده مسئول:
دکتر سیما نصری
گروه زیست‌شناسی دانشگاه
آزاد اسلامی واحد پرند
تهران - ایران
تلفن: ۸۲۳۳۷۷ - ۲۱ - ۹۸
پستالکترونیکی:
S_nasri2000@yahoo.com

دریافت مقاله: ۸۳/۱۰/۲۷ اصلاح نهایی: ۸۳/۱/۲۹ پذیرش مقاله: ۸۴/۲/۲۷

مقدمه:

یونانی Dioscorides به منظور کاهش میل جنسی تجویز می‌شده است. همچنین مورخ یونانی Pliy (قرن اول میلادی) توضیح داده است که پاشیدن میوه گیاه بر رختخواب زنان سربازان در هنگام جنگ نشانه‌ای از وفاداری این زنان به همسران خود بوده است (۲).

میوه این گیاه جهت درمان مشکلات قاعدگی در زنان از جمله سندرم پیش از قاعدگی، بهم خوردن تعادل میزان هورمون‌های استروژن و پروژسترون، نقص در جسم زرد، عوارض یائسگی

پنج انگشت گیاهی از خانواده شاه‌پسند (*Verbenacea*) بوده و بومی مناطق آسیای مرکزی و مدیترانه‌ای می‌باشد. این گیاه بوته‌ای، با برگ‌های پنجه‌ای و گل‌هایی به رنگ بنفش روشن می‌باشد، عطر و مزه میوه‌های آن شبیه به فلفل می‌باشد و عصاره میوه‌های آن مصرف دارویی دارد (۴). تاریخچه‌ای طولانی از کاربرد اولیه گیاه در نوشته‌های بقراط اشاره شده است. عصاره این گیاه بوسیله پزشک

پایان عصاره گیری ۵۸ درجه بود که کاملاً تقطیر شد و عصاره باقیمانده جهت آزمایشات استفاده گردید. عصاره حاصل جهت فیلتراسیون از کاغذ صافی و جهت میکرب‌زدایی از صافی میکروپور عبور داده شد و پس از آن در دمای ۳۰-۴۰ درجه سانتیگراد خشک شد. عصاره بدست آمده در توئین حل و به آن آب افزوده شد که جهت انجام تحقیقات بعدی در یخچال نگهداری گردید.

بروموکریپتین آگونیست گیرنده دوپامینی محصول شرکت Lek که از شرکت دارویی و صنعتی مینو خریداری شد.

جهت انجام مطالعه از ۶۴ سر موش سوری نر بالغ با وزن ۲۵-۲۰ گرم از نژاد Balb/C خریداری شده از انستیتو پاستور ایران استفاده شد. موشها در اتاق حیوانات و تحت شرایط کنترل شده از نظر نور، دما و رطوبت، با تناوب نوری ۱۲ ساعت تاریکی-۱۲ ساعت روشنایی و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند.

حیوانات به ۳ گروه تقسیم شدند: گروه دریافت کننده عصاره گیاه که خود به ۷ زیر گروه تقسیم و هر زیر گروه یکی از دوزهای ۶۵، ۱۶۵، ۲۶۵، ۳۶۵ و ۴۶۵ میلی گرم بر کیلوگرم و یا حلال مربوطه را دریافت کردند. گروه دریافت کننده بروموکریپتین که خود به ۵ زیرگروه تقسیم و هر زیر گروه یکی از دوزهای ۵، ۱۰، ۲۰ میلی گرم بر کیلو گرم بروموکریپتین و یا حلال مربوطه را دریافت نمودند. در هر گروه تجربی گروه کنترل هیچ تزریقی دریافت نکرده و تنها تحت شرایط آزمایشگاهی نگهداری شد. گروه آخر گروه دریافت کننده موثرترین دوز عصاره و بروموکریپتین به صورت همزمان بود.

تزریقات به مدت ۳۰ روز و بصورت داخل صفاقی انجام شد و تعداد حیوانات در هر گروه ۶ موش بود. دو ساعت بعد از آخرین تزریق دارو یا حلال، موشها تحت بیهوشی با اتر قرار گرفتند. سپس با تشریح خونگیری از سیاهرگ باب کبدی انجام شد و سرمهای حاصل جهت سنجش هورمونی در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری گشت (۱۸) و سنجش میزان هورمونهای LH و تستوسترون در سرم خون حیوانات به روش رادیو ایمنواسی (RIA) با استفاده از کیتهای LH و تستوسترون تهیه شده از شرکت کاوشیار انجام شد. حساسیت کیت LH

، هیپرپرولاکتینمی مورد استفاده قرار می گیرد. متاسفانه، ساز و کار اثر میوه گیاه و ترکیبات موثر آن هنوز دقیقاً مشخص نیست (۶).

از میوه گیاه گلیکوزید ایریدوئیدهای ایروستوزید (eurostoside) و اوکوبین (aucubin) و آگنوزید (agnuside)، فلاونوئیدها، دی ترپنهای لادنی همچون گلیکوزید ایریدوئیدهای ایروستوزید (eurostoside) و اوکوبین (aucubin) و آگنوزید (agnuside)، ویتکسی لاکتون (vitexilactone) و 6B,7B-diacetoxy-13-hydroxy-labda-8-14-diene جدا شده است. لازم به ذکر است که دو ترکیب آخر تمایل زیادی جهت اتصال به گیرنده های دوپامینی دارند. (۷ و ۹)

با توجه به اینکه داروهای شیمیایی دارای عوارض زیادی می باشند، استفاده از داروهای گیاهی در کشورهای مختلف از جمله ایران که دارای منابع غنی از گیاهان می باشد مورد توجه قرار گرفته است. از طرفی می دانیم که تنظیم محور هیپوفیز-گنادر در سطح مرکزی تحت کنترل ناقلین عصبی متفاوت از جمله گابا، دوپامین، نورآدرنالین و غیره است (۱۱). همچنین مشخص شده که عصاره گیاه سبب کاهش ترشح هورمون پرولاکتین می گردد زیرا بر گیرنده های دوپامینی اثر کرده و با توجه به نقش مهاری دوپامین بر پرولاکتین سبب مهار پرولاکتین می شود (۹). در این پژوهش می خواهیم بدانیم که آیا در تنظیم هورمون LH نیز مانند هورمون پرولاکتین عصاره از طریق گیرنده های دوپامینی اثر مهاری خود را می گذارد یا خیر؟

روش کار:

در این مطالعه تجربی از میوه گیاه پنج انگشت (جمع آوری شده از منطقه قم) استفاده شد. جمع آوری گیاه در مرداد ماه انجام گردید و توسط هرباریوم دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران (شماره هرباریومی THE - ۶۶۳۹) شناسایی شد میوه ها در شرایط استاندارد، تهویه مناسب، سایه خشک و سپس آسیاب و عصاره گیری شدند. عصاره هیدروالکی به روش پرکولاسیون (percolation) تهیه گردید. مدت زمان پرکولاسیون ۷۲ ساعت و مقدار میوه گیاه پودر شده و میزان حلال بکار برده شده ۱ به ۸ بود. جهت پرکولاسیون از اتانول استفاده شد که درجه الکلی در

بروموکریپتین نیز سبب کاهش هورمونهای LH و تستوسترون در سرم خون موشهای نر در مقایسه با گروه کنترل و شاهد شد (نمودارهای ۳ و ۴). بیشترین کاهش در دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم مشاهده گردید. مقایسه میانگین بین گروه دریافت کننده بروموکریپتین در دوز ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم با گروه کنترل تفاوت معنی دار را نشان می دهد. ($*P < 0.05$, $**P < 0.01$).

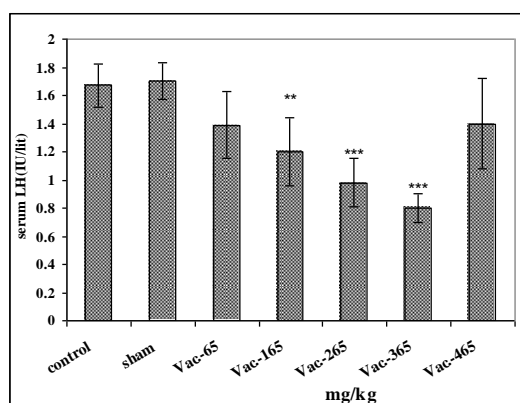
مقایسه میانگین بین گروه دریافت کننده بروموکریپتین در دوز ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم با گروه کنترل تفاوت معنی دار را نشان می دهد. ($*P < 0.05$, $**P < 0.01$). تاثیر معنی دار تداخل عمل عصاره و بروموکریپتین نسبت به گروه شاهد $####P < 0.001$ ، همچنین تاثیر معنی دار تداخل عمل عصاره و بروموکریپتین نسبت به گروه دریافت کننده بروموکریپتین به تنهایی $+++P < 0.001$ ، همچنین تاثیر معنی دار تداخل عمل عصاره و بروموکریپتین نسبت به گروه دریافت کننده عصاره پنج انگشت به تنهایی $**P < 0.01$ در این نمودار نشان داده شده است.

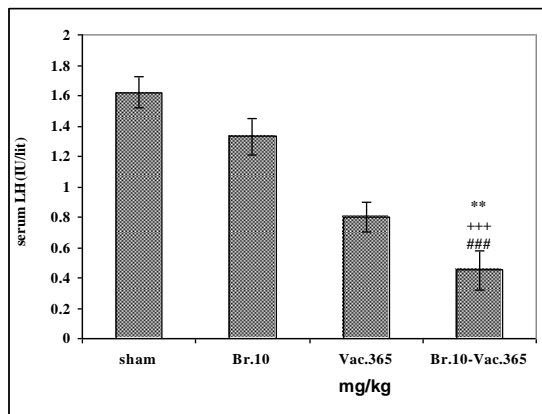
در این نمودار تاثیر معنی دار تداخل عمل عصاره و بروموکریپتین نسبت به گروه شاهد $####P < 0.001$ تاثیر معنی دار تداخل عمل عصاره و بروموکریپتین نسبت به گروه دریافت کننده بروموکریپتین به تنهایی $+++P < 0.001$ و تاثیر معنی دار تداخل عمل عصاره و بروموکریپتین نسبت به گروه دریافت کننده عصاره پنج انگشت به تنهایی $*P < 0.05$ نشان داده شده است. سرخو تداخل موثرترین دوز عصاره گیاه پنج انگشت و بروموکریپتین نیز سبب کاهش هورمونهای LH و تستوسترون شد (نمودارهای ۵ و ۶).

و ضریب تغییرات آن ۳/۹٪، حساسیت کیت تستوسترون ۱ nm/l و ضریب تغییرات آن ۷/۵٪ بود. نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS و به کمک آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل شد. جهت بررسی نتایج $P < 0.05$ به عنوان معنی دار بودن تفاوتها در نظر گرفته شد.

نتایج:

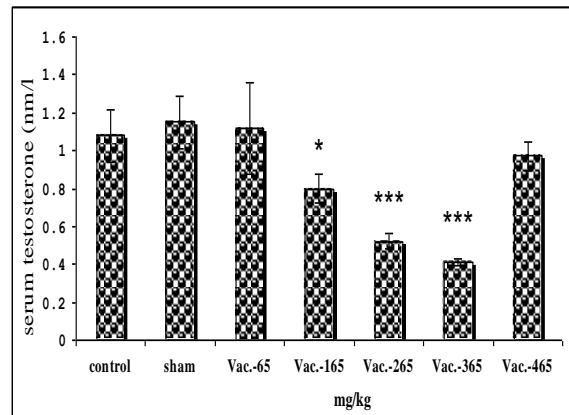
عصاره میوه گیاه پنج انگشت سبب کاهش میزان هورمونهای LH و تستوسترون در سرم خون موشهای نر در مقایسه با گروه کنترل و شاهد شد (نمودارهای ۱ و ۲). بیشترین کاهش در دوز ۲۶۵ میلی گرم بر کیلوگرم مشاهده گردید. مقایسه میانگین بین گروه دریافت کننده عصاره گیاه در دوز ۶۵، ۱۶۵، ۲۶۵، ۳۶۵ و ۴۶۵ میلی گرم بر کیلوگرم با گروه کنترل تفاوت معنی دار را نشان می دهد. ($P < 0.01$, $***P < 0.001$). مقایسه میانگین بین گروه دریافت کننده عصاره گیاه در دوز ۶۵، ۲۶۵، ۱۶۵ و ۳۶۵ میلی گرم بر کیلوگرم با گروه کنترل تفاوت معنی دار را نشان می دهد. ($*P < 0.05$, $***P < 0.001$).



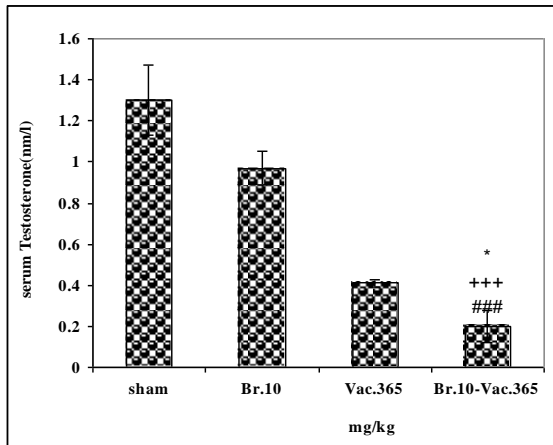


نمودار ۵- اثر تداخل عمل عصاره گیاه پنج انگشت و بروموکریپتین (Br.) بر میزان LH سرم

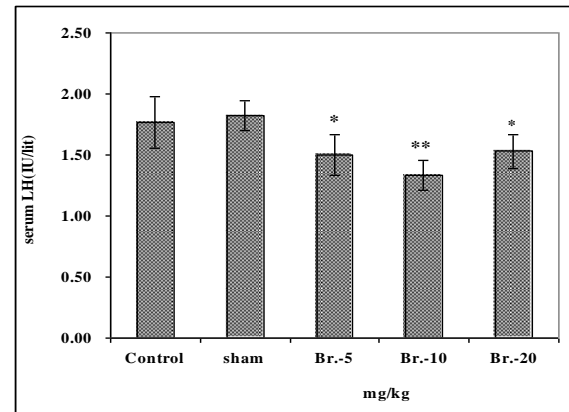
نمودار ۱- اثر دوزهای متفاوت عصاره گیاه پنج انگشت (Vac.) بر میزان LH سرم.



نمودار ۲- اثر دوزهای متفاوت عصاره گیاه پنج انگشت (Vac.) بر میزان تستوسترون سرم.



نمودار ۶- اثر تداخل عمل عصاره گیاه پنج انگشت (Vac.) و بروموکریپتین (Br.) بر میزان تستوسترون سرم

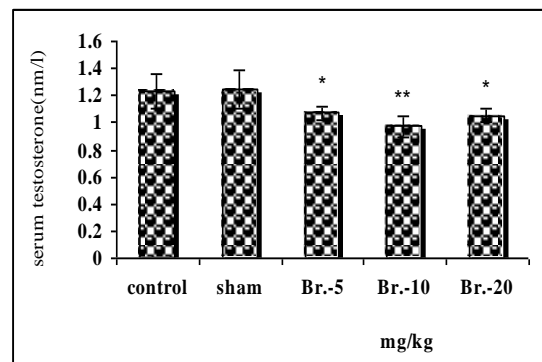


نمودار ۳- اثر دوزهای متفاوت بروموکریپتین (Br.) بر میزان LH سرم.

بحث و نتیجه‌گیری:

نتایج پژوهش قبلی نشان می‌دهد که عصاره گیاه پنج انگشت سبب کاهش معنی دار هورمون‌های LH, FSH و تستوسترون در حیوان نر می‌شود (۱۴). از طرف دیگر استفاده از سلولهای هیپوفیز قدامی موش صحرایی ماده و تاثیر عصاره بر این سلولها سبب مهار ترشح پرولاکتین شده است ولی بر میزان ترشح هورمون‌های LH, FSH اثر نداشته است (۹). نتایج حاصل از تحقیق حاضر نیز نشان می‌دهد که عصاره گیاه پنج انگشت سبب کاهش هورمون‌های LH و تستوسترون در موش سوری نر شده است.

بر اساس تحقیقات انجام شده سندرم پیش از قاعدگی به دلیل تغییر میزان استروژن و پروژسترون ایجاد



نمودار ۴- اثر دوزهای متفاوت بروموکریپتین (Br.) بر میزان تستوسترون سرم.

دوپامین از ناقلین عصبی است که اثر مهاری بر محور هورمونی هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد دارد (۱ و ۱۱).

پس عصاره گیاه پنج انگشت با فعال کردن مسیره‌های دوپامینرژیک سبب مهار محور هورمونی هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد می‌شود.

اما میزان کاهش LH و تستوسترون حاصل از اثر توام عصاره و بروموکریپتین بیشتر از اثر بروموکریپتین و عصاره گیاه به تنهایی می‌باشد. این نشان می‌دهد که احتمالاً عصاره از طریق مسیره‌های دیگر نیز به جز دوپامین اثر کرده است. بر اساس تحقیقات قبلی عصاره میوه گیاه پنج انگشت محتوی تعدادی ترکیبات فیتواستروژنی است. فلاونوئیدهای apigenin, vitexin, penduletin, از عصاره گیاه جدا شده اند که توانایی اتصال به گیرنده های استروژنی را دارند (۱۰). استفاده دراز مدت از عصاره های گیاهی که حاوی فیتواستروژن ها هستند سبب فیدبک منفی بر LH شده و بنابراین میزان تستوسترون را کاهش می‌دهد (۱۲ و ۱۷). با توجه به تحقیق حاضر، عصاره گیاه پنج انگشت می‌تواند با تحریک گیرنده های دوپامینی موجود در هیپوتالاموس و یا اثر مستقیم بر گنادوتروپینها اثرات مهاری خود را بر محور هیپوفیز-گناد بگذارد. همچنین این عصاره احتمالاً از طریق سایر مسیره‌ها از جمله گیرنده‌های استروژنی نیز ممکن است این محور را مهار کند. بنابراین، می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که عصاره میوه گیاه پنج انگشت سبب مهار هورمون های لوتئینی و تستوسترون در موش نر می‌گردد. بعلاوه یکی از راه‌های تاثیر عصاره مسیره‌های دوپامینرژیک می‌باشد. پس می‌توان از عصاره گیاه جهت درمان موارد پاتولوژیک افزایش هورمون های LH و تستوسترون در جنس نر استفاده کرد. همچنین عصاره گیاه می‌تواند در درمان مواردی که با اختلالات مسیره‌های دوپامینی همراه است نظیر پارکینسون مورد توجه قرار گیرد که باید مطالعه بیشتری بر آن صورت گیرد. بعلاوه، با توجه به استفاده از عصاره تام در این پژوهش و ترکیبات متفاوتی که در آن وجود دارد از جمله فلاونوئیدها، ویتکسین، ویتکسی لاکتون و اسانس تعیین دقیق مسیره‌های تنظیمی LH و تستوسترون توسط عصاره میوه گیاه نیاز به پژوهش‌های بیشتر دارد.

می‌شود و عصاره گیاه سبب تعادل طبیعی بین استروژن و پروژسترون در دوره قاعدگی می‌گردد (۱۳).

از طرفی عصاره مذکور سبب افزایش اثرات پروژسترونی و کاهش اثرات استروژنی در زنان و خوکچه های هندی ماده می‌گردد (۳).

بنابراین، عصاره گیاه می‌تواند سبب افزایش میزان پروژسترون گردد و از طرف دیگر پروژسترون برون را سبب کاهش میزان گنادوتروپینها و تستوسترون در حیوانات نر می‌گردد (۱۱).

عصاره این گیاه سبب تنظیم هورمونهای LH و FSH هیپوفیز قدامی در زنان می‌شود (۴).

پس همانگونه که در جنس ماده عصاره می‌تواند مستقیماً بر هیپوفیز اثرات تنظیمی داشته باشد، می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً در جنس نر نیز، این اثرات مستقیم وجود داشته باشد.

در تحقیق حاضر بروموکریپتین سبب کاهش LH و تستوسترون شد. نتایج حاصل با نتایج تحقیقات قبلی مطابقت دارد (۸ و ۱۲ و ۱۵).

در محیط کشت سلولهای هیپوفیز قدامی موش صحرایی، عصاره پنج انگشت سبب مهار معنی دار پرولاکتین پایه و پرولاکتین تحریک شده با TRH می‌شود. میزان مهار با بازداری حاصل از آگونیستهای مصنوعی دوپامین مانند لیزورید (Lisuride) یکسان می‌باشد (۱۶). با استفاده از روش سنجش اتصال به گیرنده دوپامینی مشخص شده است که عصاره گیاه پنج انگشت دارای تمایل زیادی جهت اتصال به گیرنده های دوپامینی است (۹). همچنین در موشهای صحرایی سالم و شیرده گیاه پنج انگشت سبب کاهش معنی دار تولید شیر در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل شده است (۵). بعلاوه ترشح پرولاکتین از سلولهای هیپوفیز قدامی حیوان ماده در محیط کشت تحت تاثیر عصاره کاهش می‌یابد (۹). از طرفی دوپامین یک عامل مهاری مهم پرولاکتین است که تولید شیر را کاهش می‌دهد (۱۱)، عصاره گیاه نیز تولید شیر را کاهش می‌دهد (۱۶). بنابراین، با توجه به تمایل زیاد عصاره پنج انگشت به گیرنده های دوپامینی از یک طرف و تاثیر منفی آن بر پرولاکتین مشابه آگونیستهای دوپامینی عصاره می‌تواند از طریق مسیره‌های دوپامینی سیستم عصبی مرکزی عمل کند.

References

منابع

1. Bem MR, Levy NM, Koepfen MB, Stanton AB. Physiology. 4 th ed. St Louis: Mosby; 1998.
2. Blumenthal M. Herbal medicine. Philadelphia: Integrative medicine communications; 1999.
3. Bone K. Vitex agnus-castus: Scientific studies and clinical applications. *Eur J Herbal Med.* 1994; 1(2):1215.
4. Burch E. Vitex agnus-castus. Availabl at URL: <http://www.hebcraft.com>
5. Christie S, Walker A. Vitex agnus-castus. A review of its traditional and modern therapeutic use, current use from a survey of practioners. *Eu J Herb Med.* 1997; 3: 29-45.
6. Hoberg E, Orjala J.E, Merier B, Sticher O. Diterpenoids from the fruits of vitex agnus-castus. *Phytomed.* 1999; 52:1555-1558.
7. Hoberg E, Meirer B, Sticher O. Quntitative high performance liquid chromatographic analysis of diterpenoids in Agni-casti fructus. *Planta Med.* 2000; 66: 352-355.
8. Hagannadha Rao A, Kotagi SG. Effect of suppression of prolactin on gonadal function in immature male hamsters. *Androl.* 1989; 21(5),498-501.
9. Jarry H, Leonhardt S, Grokow C, Wuttke W. In vitro prolactin but not LH and FSH release is inhibited by compounds in extracts of Agnus castus: direct evidence for a dopaminergic principle by the dopamine receptor assay. *Exp Clin Endocrinol.* 1994; 102(6): 448-454.
10. Jarry H, Sepngler B, Prozel A, Schmid J, Wuttke W, Christoffel V. Evidence for estrogen receptor beta-selective activity of vitex agnus-castus and isolated flavones. *planta Med.* 2003; 69(10): 945-947.
11. Kacsoh B. Endocrine physiology. Philadelphia: McGraw-Hill; 2000.
12. Malaivijitnond S, Patthama K, Cherdshewasart W, Watanabe G, Taya K. Different effects of pueraria mirifica, a herb containing phytoestrogens on LH and FSH secretion in gonadectomized femal and male rast. *J Pharmacol Sci.* 2004; 96: 428-435.
13. Milewicz A, Gejdel E, Sworen H, Sienkiewicz K, Vitex agnus castus extract in the treatment of luteal phase defects due to latent hyperprolactinemia. Results of a randomized placebo-controlled doubleblind study. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 1996; 104(6): 447-453.
14. Nasri S, Oran S, Haeri Rohani A, Amin GH. The effects of vitex agnus castus extract on Gonadotrophines and Testosterone in male mice. *Iranian Intern J Sci.* 2004; 5(1): 25-30.
15. Pakarinen P, Niemimaa T, Huhtaniemi I.T, Warren D.W. Transcription and translational regulation of LH, Prolactin and their testicular receptors by HCG and bromocriptine treatments in adult and neonatal rast. *Molecul Cell Endocrin.* 1994; 101: 37-47.
16. Sliutz G, Speiser P, Schultz AM, Spona J, Zeillinger R. Agnus castus extracts inhibit prolactin secretion of rat pituitary cells. *Horm Metab Res.* 1993; 25(5): 253-255.
17. Struss L, Makela S, Joshi S, Huhlanierri I, Santti R. Genistein exerts estrogen - like effects in male mouse reproductive tract. *Mol Cell Endocrinol.* 1998; 144: 83-93.
18. Waeber C, Remond O, Remond M, Beraud T. Effects of Hyper and Hypoprolactinemia on gonadotropin secretion, rat testicular Luteinizing Hormone/Human chronic gonadotropin receptors and testosterone production by isolated leydig cells. *Biol Reproduct.* 1983; 28: 167-177.