

## تأثیر عصاره برگ گیاه پنج‌انگشت (*Vitex agnus castus*) بر ترشح هورمون پرولاکتین در موشهای صحرایی (Rat) ماده در دوران بارداری

سیده مریم شوریده ضیابری<sup>۱\*</sup>، امین الله بهاء‌الدینی<sup>۲</sup>، محمد آزادبخت<sup>۲</sup>، اسدالله ظریفکار<sup>۲</sup>، عزیزالله جعفری<sup>۲</sup> و شیدخت حسینی<sup>۲</sup>.

<sup>۱</sup> ساری، دانشگاه ساری دانشکده داروسازی

<sup>۲</sup> شیراز، دانشگاه شیراز، دانشکده علوم، بخش زیست شناسی

تاریخ پذیرش: ۸۵/۶/۲۳

تاریخ دریافت: ۸۴/۶/۳

### چکیده

از میان گیاهان دارویی، پنج‌انگشت (*Vitex agnus castus*) گیاهی است که از قرن‌ها پیش شناخته شده و برخی مردم برای ازدیاد شیر، کنترل آمنوره، کم کردن قوه باه، درمان سندرم پیش قاعدگی و یائسگی از برگها و میوه‌های آن استفاده می‌کرده‌اند. در این تحقیق اثر عصاره الکلی برگ گیاه پنج‌انگشت (V.a.c) بر میزان سرمی هورمون پرولاکتین در دوران بارداری موشهای صحرایی ماده بررسی شده است. عصاره گیاه در دوره بارداری بمدت هفت و پانزده روزه با خوراندن، به موشهای صحرایی ماده تجویز شد. گروههای شاهد مربوط به هر دوره به جای عصاره، آب مقطر دریافت کرد. برای تهیه نمونه‌های خونی از هر موش در روزهای هفتم و پانزدهم بارداری، پس از بیهوشی حیوان با استنشاق اتر و پس از برداشت مقدار لازم خون از قلب آن کشته می‌شد. سرم خون تمام نمونه‌ها بوسیله سانتریفوژ جدا شده و برای اندازه‌گیری میزان هورمون پرولاکتین سرم به روش رادیوایمونواسی (RIA) مورد استفاده قرار می‌گرفت. نتایج آماری بدست آمده بروش آنالیز واریانس یگانه و چندگانه (ANOVA & MANOVA) و آزمون آماری (LSD) با در نظر گرفتن  $P < 0.05$  مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که میزان پرولاکتین سرم در پاسخ به تجویز دوزهای ۲، ۱۰ و ۷۰ mg/kg/day عصاره ی برگ در روز هفتم بارداری نسبت به گروه شاهد افزایش چشمگیر دارد در حالیکه میزان این هورمون در روز پانزدهم بارداری نسبت به گروه شاهد دارای اختلاف معنی دار نمی‌باشد. در نتیجه: ۱- این نتایج با نقش پرولاکتین در قبل از روز پانزدهم بارداری در موش صحرایی مطابقت دارد. ۲- این اثر احتمالاً مربوط به اثر لوتوتروپیک عصاره ی گیاه است که در سطح هیپوفیز عمل کرده و با مهار FSH، تحریک LH و پرولاکتین را سبب می‌شود. ۳- میزان سرمی پرولاکتین تحت اثر عصاره با دوزهای معین نسبت به گروه شاهد افزایش و در برخی دوزها کاهش می‌یابد، ۴- اثر عصاره برگ بر میزان پرولاکتین با دوزهای یکسان در دوره‌های متفاوت یکسان نیست. در مجموع به نظر می‌رسد عملکرد این گیاه وابسته به میزان پرولاکتین پیش از استفاده از عصاره در دوز به کاررفته باشد.

واژه‌های کلیدی: پنج‌انگشت، پرولاکتین، دوران بارداری، موش صحرایی

\* نویسنده مسئول، تلفن تماس: ۰۹۱۱۳۳۶۲۰۵۷، پست الکترونیکی: [shouride.maryam@yahoo.com](mailto:shouride.maryam@yahoo.com)

### مقدمه

بوده و هم‌اکنون با پیگیری بیشتر در مسیر تحقیقات قرار گرفته و هر روز فایده‌های آن از جنبه‌های گوناگون آشکار می‌شود، گیاه "پنج‌انگشت" (*Vitex agnus castus*) است. مطالعات اخیر فارماکولوژیک و کلینیکی نشان داده

در عصر کنونی، با توجه به آثار جنبی داروهای دست‌ساز بشر، بهره‌گیری از گیاهان و طب سنتی رواج بیشتری یافته و روز به روز فوائد گیاهان گوناگون بیشتر شناخته می‌شود. یکی از گیاهانی که از گذشته‌های دور مورد نظر

پراکندگی در ایران: این گیاه با برگهای زیبا و دانه‌های تند و معطر در نقاط استپی جنوب ایران، از جمله در گچساران می‌روید (۲، ۵، ۷، ۲۱، ۲۳).

**مشخصات گیاه‌شناسی:** پنج‌انگشت به صورت درختچه‌ای پایا، با شاخه‌های قهوه‌ای به ارتفاع نیم تا ۳ و گاه به ۵ متر نیز می‌رسد و ۳ تا ۵ برگچه به رنگ سبز تیره دارد (شکل ۱). گلها هرمافرودیت، دمگله‌ها کوتاه، تقریباً بی‌پایه و فاصله‌دارند؛ جام آبی تا بنفش (غفائی رنگ) با لوله پیوسته بوده و دارای ۴ پرچم قرار گرفته در جام، میوه آن شفت نیم‌خشک کروی با نوک بلند و کرکدار و بوی تند و معطر که در نیمه پائین به وسیله کاسه گل پوشیده است. فصل شکوفه دادن آن از اردیبهشت ماه (May-June) آغاز شده و تا شهریور ادامه دارد (۲، ۵، ۲۲، ۲۳).



شکل ۱: گیاه پنج‌انگشت (V.a.c.)

**ویژگیهای داروئی و درمانی و کاربردهای داروشناسی:** ویژگیهای داروئی V.a.c در دانه‌ها، برگها، چوب و گلها دیده شده است (۱۲). بهترین زمان برای پیدایش برگها همراه با شکوفه‌های زیاد در زمان صمغ دادن Balzamic (time) یعنی خرداد و تیرماه است و میوه‌ها در اواخر تابستان می‌رسند. در دوره صمغ‌دهی، ماده فعال آن که اسانس است از دانه‌ها، برگها و انتهای شاخه‌های جوان بدست می‌آید. برگها باید خوب رشد کرده و جوان باشند. این گیاه به صورت داروی دم‌کرده یا عصاره مایع مورد استفاده قرار می‌گیرد. مقدار خوراک روزانه این گیاه حداقل

است که عصاره گیاه Vitex.a.c بر جسم زرد اثر مستقیم داشته، دارای اثرات ضد استروژنی است و در سطح هیپوفیز از تولید هورمون FSH جلوگیری کرده، در حالیکه ترشح هورمونهای LH و پرولاکتین را تحریک می‌کند و نیز میزان هورمونهای جنسی ماده را در جهت اصلاح بی‌نظمی، تغییر می‌دهد (۱۶، ۱۹).

**پیشینه تاریخی و کاربردهای سنتی:** گیاه "پنج انگشت" (*Vitex agnus castus*) از زمانهای قدیم در طب سنتی ایران مورد نظر بوده و ابوعلی سینا در کتاب قانون (جلد ۱) آنرا "بنجکشت" نامیده است. وی بنجکشت را گیاهی پایا با شاخه‌های سخت توصیف کرده که در کنار آبها می‌روید و آنرا لطیف کننده، گدازنده، بادشکن، بازکننده با کمی قابضیت می‌داند و ضمادش را با برگ علاج پیچش عصب و رفع کننده خستگی دانسته و در موارد بسیار از جمله در ازدیاد شیر و دردهای قاعدگی در زنان بکار می‌برده است (۱). یونانیان باستان آنرا به عنوان دارو مصرف می‌کردند و ارتباط نزدیکی با تشریفات مذهبی آنان داشته است. در یونان و روم برای درمان التهاب رحم و تحریک جریان شیر و نیز بعنوان داروی کم کننده قوه بیه (Anaphroditic) مورد استفاده بوده است. بدلیل کاهش میل جنسی و توقف آن، آنرا درخت پاکدامنی (Chaste tree) یا فلفل راهب (Monks epper) نامیده اند. در ایران برای سندرم پیش قاعدگی و درمان یائسگی به‌کار می‌رفته است (۵، ۱۷، ۲۰).

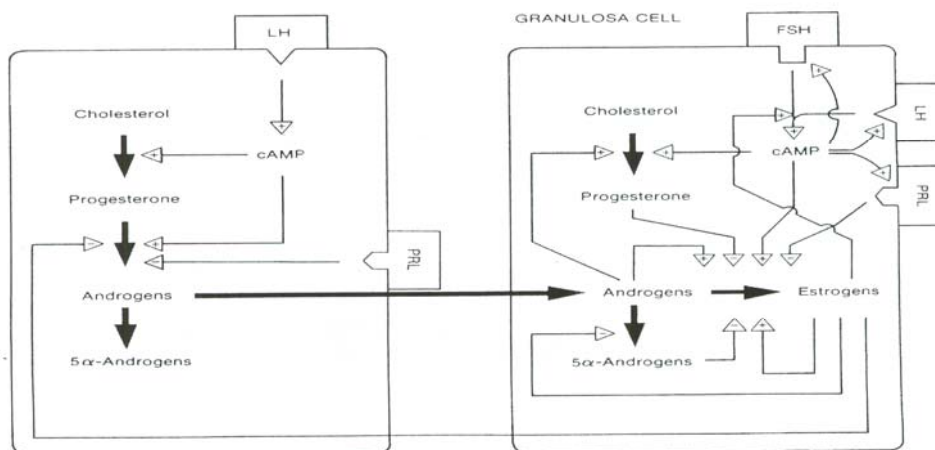
**رده‌بندی گیاه:** این گیاه به جنس (*Vitex*)، رده‌ی دولپه‌ایها، زیررده‌ی پیوسته‌گلبرگان، راسته لوله‌گلیها، خانواده شاه‌پسند (*Verbenaceae*) تعلق دارد و بطور عمده در آسیای مرکزی و استوائی می‌روید (۵، ۲۳).

**نامهای محلی:** گیاه پنج‌انگشت نامهای محلی بسیار دارد، از جمله در فارسی آنرا، فلفل کوهی، در شیراز، دل‌آشوب و در گچساران، بنج‌رو، نامیده‌اند (۸، ۵).

نسبت استرون به پروژسترون و ساخته شدن پروژسترون از استروژن می باشد (۲، ۱۵، ۲۳). پرولاکتین فعالیت آروماتاز را مهار کرده و در تنظیم تولید استروژن در سیکل تخمدانی (شکل ۲) اثر دارد (۱۸، ۱۹).

**ترکیبات شیمیایی:** مجموعه ای از مواد فعال در گیاه پنج انگشت وجود دارد که با ویژگی های درمانی آن مربوط هستند. این ترکیبات به چندین گروه از مواد شیمیایی تعلق دارند (۲۱، ۲۳) این ترکیبات در جدول (۱) خلاصه شده اند (۲۳).

پنج گرم است (۷، ۵). برای تهیه دم کرده آن می توان مقدار یک تا دو قاشق سوپ خوری از پودر برگ آن را در یک فنجان آب به مدت ۱۵ دقیقه دم کرده و به مقدار دو تا چهار فنجان در روز مصرف کرد؛ عصاره آن به مقدار یک تا دو گرم در روز مصرف می شود (۸، ۵). پژوهش های داروشناسی اخیر نشان داده اند که عصاره گیاه پنج انگشت یک اثر غیرمستقیم تحریک جسم زرد (بزرگ شدن یا اثر لوتئو تروفیک Luteotrophic) همراه با اثر ضد استروژنی را داراست. (۲، ۱۶، ۱۵، ۲۳) بر اساس این مطالعات عصاره گیاه به ویژه با تغییر میزان هورمون های جنسی تا برطرف شدن عدم تعادل عمل می کند. و اثر خالص، تغییر در تعادل



شکل ۲- جایگاه های تنظیم ساخت فولیکولی استروئیدها در موش صحرایی و مهار القاء فعالیت آروماتاز توسط پرولاکتین: اثر پرولاکتین در تنظیم تولید استروژن در سیکل تخمدانی هنوز (تاریخ آزمایش)، قطعی نیست. (پاتون، ۱۹۹۳، صفحه ۶۱۰)

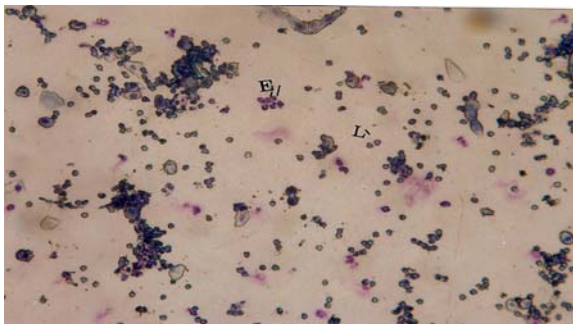
جدول ۱- ترکیبات شیمیایی گیاه پنج انگشت (*Vitex agnus castus* L.) (۲۳).

	Iridoid	Flavonoids	Alkaloids	Glucosides	Steroids
Wood	Aucubin Agnuside	Flavon-c-glicoside (type orientin)	-	-	-
Leaf	Aucubin Agnuside Eterostoside	Casticin Omoorientin Orientin Isoorientin Isovitexina Isovitexin-Glucoside Isovitexin-xiloside Luteolin-7-glicoside	Vitacin	Vitexin Vitexinin	A4-3- ketoster
Fruit	Aucubin Agnuside	Casticina 6-idrossikamferol-3,6,7,4 tetramethyl= ether Penduleina Chryso splenolo D	-	Castin	-

## مواد و روشها

موش، در گروههای آزمایشی به روش خوراکی استفاده گردید.

**تغذیه و محل نگهداری حیوان:** برای انجام این تحقیق از موشهای صحرایی (Rat) آزمایشگاهی ماده بالغ و سالم از نژاد (Charles River) با وزن ۱۸۰-۲۲۰ گرم و سن چهار تا پنج ماهگی تهیه شده از بخش حیوانات دانشکده پزشکی شیراز انتخاب و در قفسه‌های انفرادی در محل آزمایشگاه بخش زیست شناسی دانشکده علوم نگهداری شد (۱۱) در مدت مطالعه موشها در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی (۷/۳۰ صبح تا ۷/۳۰ شب) و ۱۲ ساعت تاریکی (۷/۳۰ شب تا ۷/۳۰ صبح) قرار گرفتند. درجه حرارت محیط در محدوده ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد ثابت نگهداشته شد (۱۴). موشهای مورد مطالعه قبل از تجویز عصاره بمدت حداقل چهار روز در شرایط فوق نگهداری شدند، تا به شرایط محیط کاملاً عادت نمایند، طی این مدت حیوانات از غذای معمولی و آب کافی بهره‌مند بودند. در مدت فوق حیوانات از نظر نظم مراحل دوران استروس مطالعه می‌شدند (شکلهای ۳ تا ۷) (۱۴) و پس از اطمینان از وجود نظم مزبور، روزانه وزن شده و براساس وزن از عصاره تعیین شده خوراندند. توضیح این که عصاره الکلی تهیه شده با آب مقطر رقیق و برحسب غلظت محاسبه شد و بر اساس وزن حیوان مورد آزمایش با اندازه گیری روزانه، مصرف شد).



شکل ۳- اسمیر واژن در مرحله دی استروس، رنگ آمیزی با استفاده از رنگ گیمسا انجام شده و بزرگنمایی میکروسکوپ  $10 \times 40$  برابر می‌باشد. C; Cornified cell, E; Epithelial cell.

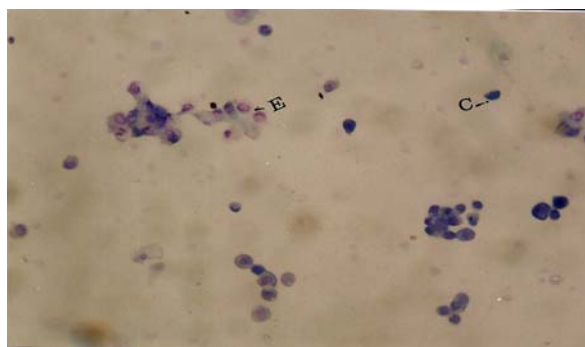
تهیه و شناسائی گیاه. گیاه V.a.c از منطقه بین روستاهای بوستان و چم‌بلبل واقع در ۱۰۳ کیلومتری جاده یاسوج- گچساران (ارتفاع از سطح دریا ۵۷۰ متر) جمع‌آوری و شناسائی گردید (شکل ۱). سپس برگ گیاه جدا و در سایه خشک شده و بوسیله آسیاب برقی پودر گردیده و در ظرف تیره نگهداری شد.

**عصاره گیری از برگ:** مقدار ۵۰ گرم از پودر برگ گیاه در داخل دستگاه عصاره گیری (Soxhlet) ریخته شد (۱۰). برای عصاره گیری از حلال اتانول ۵۰ درصد بمیزان ۲۵۰ میلی لیتر استفاده گردید. عمل عصاره گیری بمدت ۴ ساعت انجام شد. در پایان مقدار عصاره الکلی بدست آمده برابر با ۱۸۰ میلی لیتر بود که بداخل ظرف تیره منتقل و برای مصرف در یخچال نگهداری شد (آزمایشگاه فارماکونوزی دانشکده داروسازی شیراز).

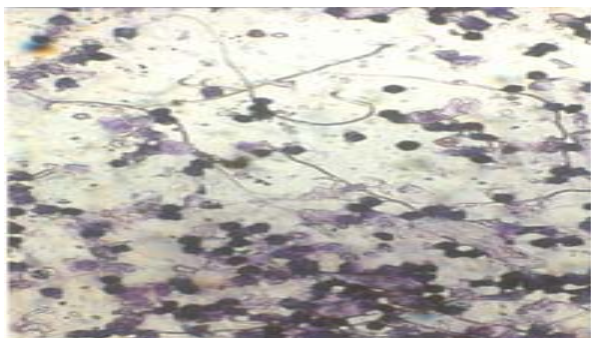
**تعیین در صد ماده خشک موجود در عصاره برگ:** برای تعیین مقدار ماده خشک عصاره برگ، مقدار ۱۰ میلی لیتر عصاره الکلی برگ را پس از تهیه، در یک کروزه خشک و تمیز ریخته، سپس روی بن‌ماری تا زمان خشک شدن کامل، حرارت داده شد و با توجه به حجم کل عصاره الکلی بدست آمده و میزان پودر برگ مورد استفاده، درصد ماده خشک آن اندازه‌گیری شد.

**تعیین دوز (مقدار موثر):** با توجه به اینکه مصرف سنتی عصاره آبی برگ گیاه به صورت روزانه سه بار و هر بار دو گرم است (به عبارتی در یک فرد ۵۰ کیلوگرمی روزانه ۶۰۰۰ میلی‌گرم پودر گیاه می‌تواند مصرف شود)، بنابراین میزان مصرف روزانه به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ۱۲۰ میلی‌گرم می‌باشد. لذا دوز معمول برای موشهای صحرایی (Rat) آزمایشگاهی ۲۵۰ گرمی برابر ۳۰ میلی‌گرم در روز خواهد بود. براین اساس از عصاره برگی دوزهای انتخابی ۲، ۱۰، ۲۰ و ۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز، برای هر

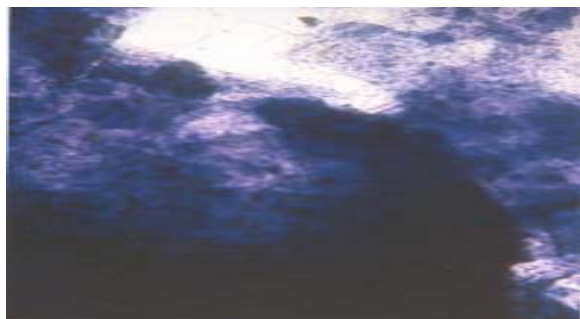
جفت گیری داده شد و پس از مشاهده واژینال اسمیر جهت اطمینان از بارداری و مشاهده پلاک حاملگی، به روش خوراکی (با Feeder nidle) عصاره دهی شدند (از روز نخست بارداری تا روز خونگیری) (شکل‌های ۸ و ۹).



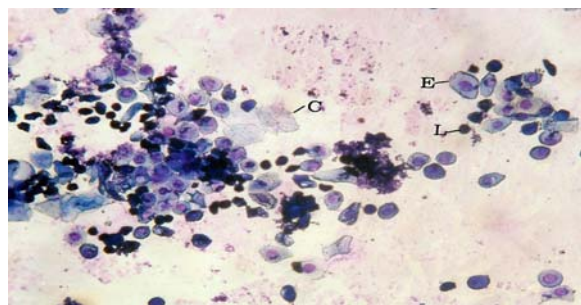
شکل ۷: اسمیر واژن در مرحله استروس، رنگ آمیزی با استفاده از رنگ گیمسا انجام شده و بزرگنمایی میکروسکوپ  $40 \times 10$  برابر می باشد. C;Cornified cell E;Epithelial cell



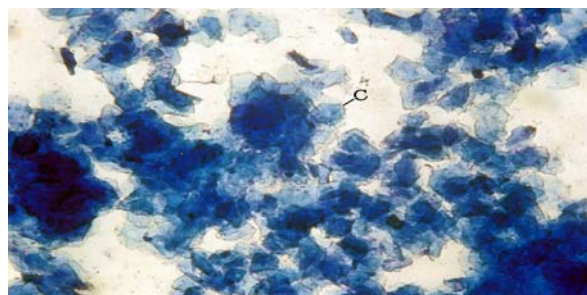
شکل ۸: اسمیر واژن در همراه با اسپرم، رنگ آمیزی با استفاده از رنگ گیمسا انجام شده و بزرگنمایی میکروسکوپ  $40 \times 10$  برابر می باشد. S:Sperm



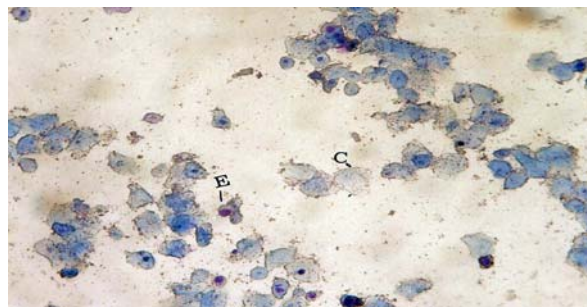
شکل ۹: اسمیر واژن در همراه با پلاک بارداری، رنگ آمیزی با استفاده از رنگ گیمسا انجام شده و بزرگنمایی میکروسکوپ  $40 \times 10$  برابر می باشد.



شکل ۴- اسمیر واژن در مرحله مت استروس-۲، رنگ آمیزی با استفاده از رنگ گیمسا انجام شده و بزرگنمایی میکروسکوپ  $40 \times 10$  برابر می باشد C;Cornified cell ; E:Epithelial cell, L:Leukocyte cell



شکل ۵- اسمیر واژن در مرحله مت استروس-۱، رنگ آمیزی با استفاده از رنگ گیمسا انجام شده و بزرگنمایی میکروسکوپ  $40 \times 10$  برابر می باشد. C;Cornified cell.



شکل ۶- اسمیر واژن در مرحله مت استروس-۲، رنگ آمیزی با استفاده از رنگ گیمسا انجام شده و بزرگنمایی میکروسکوپ  $40 \times 10$  برابر می باشد. C;Cornified cell E;Epithelial cell

حیواناتی که در دوران بارداری مورد آزمایش قرار گرفتند، حداقل چند روز پیش از جفت گیری از دانشکده پزشکی به محل نگهداری (اتاق حیوانات دانشکده علوم دانشگاه شیراز) منتقل شده و پس از کنترل نظم دوران استروس،

روشهای تجزیه و تحلیل آماری: میانگین مقادیر بدست آمده در آزمایشها و با روش آنالیز واریانس ANOVA & MANOVA) و روش SPSS، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. ضمناً برای تعیین گروههای متفاوت از تست آماری LSD با در نظر گرفتن P کمتر از پنج صدم ( $P < 0.05$ ) استفاده شد. (۳، ۹)

### نتایج

**تعیین در صد ماده خشک موجود در عصاره برگ گیاه:** باتوجه به حجم عصاره الگلی بدست آمده (۱۵۰ میلی لیتر) از ۵۰ گرم پودر برگ بوسیله دستگاه سوکسله، درصد ماده خشک عصاره، به صورت زیر محاسبه شد:

$$\text{وزن پودر برگ} \times 100 = \frac{\text{ماده خشک عصاره برگ}}{\text{وزن عصاره خشک}}$$

**آزمایش واژینال جهت تعیین مراحل جفت گیری و بارداری:** برای اطمینان از بارداری، پس از جفت گیری، سلولهای اسپرم در اسمیر واژن مشاهده و سپس وجود پلاک بارداری مورد آزمایش قرار می گرفت. با پیدایش مرحله بارداری هریک از موشهای باردار در قفسه های جداگانه نگهداری و روزانه پس از وزن شدن، هریک از دوزهای تعیین شده عصاره تا روز خونگیری، به آنها خوراند می شد (شکل ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷)

**تغییر میزان پرولاکتین سرم:** میزان غلظت سرمی هورمون پرولاکتین به روش RIA (radio immuno assay) اندازه گیری شد و پس از گرفتن میانگین نتایج زیر بدست آمد:

**تغییر میزان پرولاکتین سرم در دوره هفت و پانزده روزه ی بارداری:** در این دوران از عصاره برگ تنها سه دوز ۲، ۱۰، و ۷۰ میلیگرم بر کیلو گرم وزن در روز به حیوانات خوراند شده است. میزان پرولاکتین سرم در روز هفتم و پانزدهم بارداری، اندازه گیری و نتایج زیر بدست آمد.

**گروههای حیوانی مورد مطالعه:** موشهای صحرایی در دوره های هفتم و پانزدهم دوره بارداری به دوگروه شاهد و آزمایشی تقسیم شدند. گروه آزمایشی، خود به سه گروه دریافت کننده دوزهای ۲، ۱۰ و ۷۰ میلیگرم بر کیلوگرم در روز از عصاره برگ تقسیم شد. در گروه شاهد از آب مقطر هم حجم با دوزهای عصاره مورد نظر استفاده شد. ضمناً هرگروه شامل پنج موش بود. (این آزمایش ها برای اطمینان از نتایج بدست آمده تکرار شد).

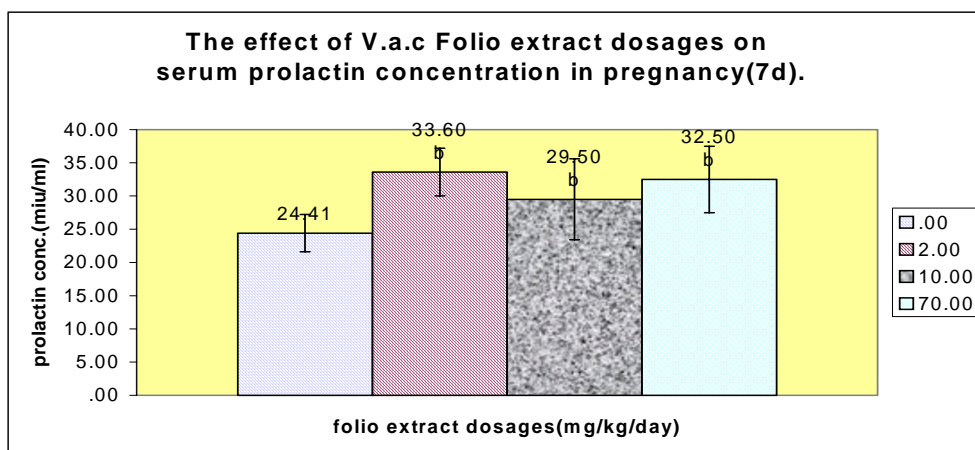
**روش تجویز عصاره:** عصاره برگ توسط سرنگهای معمولی (۵ میلی لیتر) مجهز به Feeder needle دهانی-حلقی، براساس وزن حیوان، از روز نخست بارداری، روزانه، به آنان تجویز خوراکی شد.

**مراحل خونگیری و تهیه سرم:** عمل خونگیری در روز هفتم و پانزدهم انجام گرفت. حیوان با استنشاق اتر بیهوش و پس از شکافتن سینه، به میزان لازم، خونگیری از قلب آن به عمل می آمد. خون تهیه شده در لوله های آزمایش مخصوص بمدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد و سرمهای تهیه شده در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری و غلظت هورمون پرولاکتین آنها اندازه گیری شد.

**اندازه گیری غلظت هورمون پرولاکتین:** ۲۵ میکرولیتر از هر سرم بهمراه ۳۰۰ میکرولیتر از Sampel tracer را پس از ریخته شدن در لوله کیت مخصوص اندازه گیری پرولاکتین پوشانده شده (coated) با آنتی بادی علیه پرولاکتین و نشاندار شده با ید ۱۲۵، بمدت یک ساعت با تکان دادن مخلوط در دمای اتاق انکوبه شد. سپس محلول روی نمونه ها خالی و با آب مقطر شستشو شدند (۱ میلی لیتر آب مقطر برای هر لوله کیت) سپس لوله ها خالی و کاملاً خشک شد و آنگاه بمدت معین (به ازای ۱۰۰۰۰ شمارش در هر لوله یا بمدت حداقل یک دقیقه) میزان پرولاکتین با دستگاه شمارشگر گاما (Gamma counting set) اندازه گیری شد (۶).

میزان پرولاکتین سرم در روز پانزدهم بارداری: بر خلاف روز هفتم، تغییرات میزان پرولاکتین سرم در روز پانزدهم، در پاسخ به دوزهای بکاررفته نسبت به گروه شاهد معنی دار نیست ( $\alpha < 0.05$ ). (شکل ۱۱ و جدول ۳).

میزان پرولاکتین سرم در روز هفتم بارداری: همانگونه که در (شکل ۱۰) و جدول (۲) مشاهده می شود میزان پرولاکتین سرم در پاسخ به تجویز عصاره برگ در تمامی دوزهای بکاررفته نسبت به گروه شاهد افزایش دارد و این افزایش در پاسخ به دوز ۲ بیش از ۷۰ و ۷۰ بیش از ۱۰ میلیگرم بر کیلو گرم در روز است. ( $\alpha < 0.05$ ).



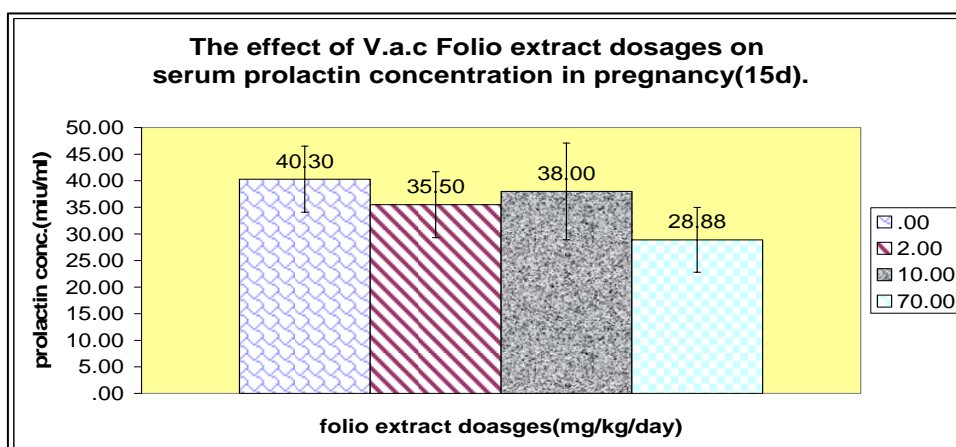
شکل ۱۰- اثر عصاره برگ گیاه پنج انگشت بر میزان هورمون پرولاکتین سرم در دوره هفت روزه بارداری موش صحرایی ماده. اعداد یک نشاندهنده عدم اختلاف معنی دار است

جدول ۲- نمایش تغییرات میانگین غلظتهای سرمی هورمون پرولاکتین پس از تجویز دوزهای مختلف عصاره برگ گیاه V.a.c در روز هفتم بارداری موش صحرایی. ( $p < 0.05$ )، \* = اختلاف با گروه شاهد، † = اختلاف با سایر گروهها

گروهها	گروه شاهد	۲mg/kg/day	۱۰mg/kg/day	۷۰mg/kg/day
غلظت سرمی پرولاکتین (miu/ml)	۲۴/۴±۲/۸	۳۳/۶±۳/۶	۲۹/۵±۶/۱	۳۲/۵±۵/۰
		*	*	*

جدول ۳- نمایش تغییرات میانگین غلظتهای سرمی هورمون پرولاکتین پس از تجویز دوزهای مختلف عصاره برگ گیاه V.a.c در دوره پانزده روزه ی بارداری موش صحرایی. ( $p < 0.05$ ) \* = اختلاف با گروه شاهد - † = اختلاف با سایر گروهها

گروهها	گروه شاهد	۲mg/kg/day	۱۰mg/kg/day	۷۰mg/kg/day
غلظت سرمی پرولاکتین (miu/ml)	۴۰/۳±۶/۲	۳۵/۵±۶/۲	۳۸/۰±۹/۱	۲۸/۸±۶/۱



شکل ۱۱- اثر عصاره برگ گیاه پنج انگشت بر میزان هورمون پرولاکتین سرم در دوره پانزده روزه ی بارداری در موش صحرایی ماده.

### بحث و نتیجه گیری

بالا با غلظت یکسان در مراحل مختلف متفاوت است و در یک حالت نیز دوزهای با غلظت متفاوت اثر یکسان ندارند. اما بهر حال اثر لوتئوتروپیک عصاره گیاه در روزهای نخست بارداری که در موش صحرایی برای بارداری ضروری است، مشخص است. ترشح پرولاکتین بوسیله یک فاکتور مهار کننده پرولاکتین بنام (PIF) سرچشمه گرفته از هیپوتالاموس، کنترل می شود. ممکن است چندین فاکتور وجود داشته باشد، ولی دوپامین بعنوان مهمترین فاکتور پذیرفته شده است. در هیپوتالاموس همچنین یک فاکتور دیگر بنام آزادکننده پرولاکتین (PRH) که ترشح پرولاکتین را تحریک می کند، نیز ساخته می شود. بنظر می رسد که این فاکتور یک هورمون آزادکننده تیروتروپین (TRH) باشد. در زنان، میانگین سطح پرولاکتین در سرم، اندکی بیش از مردان است. این هورمون در زنان در دوران بلوغ افزایش ملایمی دارد که احتمالاً مربوط به سطح افزایش مقادیر استروئیدهای موجود در خون است و در هنگام یائسگی کاهش یافته و در دوران بارداری افزایش می یابد (۶ و ۱۹). بالا رفتن پاتولوژیکی غلظت هورمون پرولاکتین در بیماریهای هیپوفیزی- هیپوتالاموسی اغلب همراه با تومورها یا آسیبهای هیپوفیز و عدم انتقال دوپامین

همانگونه که نتایج نشان می دهد، میزان پرولاکتین در دوز هفت روزه بارداری در تمامی دوزهای بکار رفته عصاره برگ افزایش داشته و این میزان در پاسخ به عصاره برگ با دوز ۲ میلیگرم بیش از دوز ۷۰ میکروگرم و هر دو بیش از دوز ۱۰ میلیگرم می باشد در حالیکه در دوره پانزده روزه بارداری در پاسخ به عصاره ی برگ در تمامی دوزها نسبت به گروه شاهد، تغییرات میزان پرولاکتین سرم معنی دار نیست. این نتایج با نقش پرولاکتین در قبل از روز پانزدهم بارداری در موش صحرایی مطابقت دارد، چرا که تزریق روزانه پرولاکتین در موش صحرایی ماده مسئول طولانی شدن عمل جسم زرد شده و به کارگیری مهار کننده ترشح پرولاکتین، Ergocorarine در روزهای ۶، ۷، ۸ و ۹ می تواند به بارداری کاذب پایان دهد و ممکن است با اثر عملکردی عصاره گیاه در سطح هیپوفیز که تولید FSH را مهار و تولید LH و پرولاکتین را تحریک می کند (۱۹ و ۲۴)، مربوط باشد. بطور خلاصه مشاهده می شود که تجویز دوزهای یکسان عصاره نتایج مشابهی در بر ندارد که احتمالاً مربوط به سطح پرولاکتین پیش از مصرف عصاره، و نیز با اثرات فیدبکی پرولاکتین مطابق با میزان ترشح آن، می باشد. بنابراین احتمالاً پاسخ میزان پرولاکتین به دوزهای



LHRH، در جریان خون پورتال، با ترشح ضربانی LH در تناوب های ۱۶ تا ۲۵ ثانیه است. پرولاکتین همچنین قادر به تنظیم گونادوتروپین هاست. هایپرپرولاکتینمیا بویژه ترشح هورمون LH را مهار می کند (۱۹ و ۱۴) اثری که ممکن است برای القاء شیردهی بشمار آید.

هورمون پرولاکتین با آزاد شدن GnRH تداخل عمل دارد و نورونهای توبرواینفاندیبولار دوپامین را فعال می کند، یک فیدبک کوتاه اثر مهم برای هموستازی پرولاکتین، که در پایداری ترشح هورمون، در محدوده فیزیولوژیک، شرکت می کند. اثر فیدبک پرولاکتین همچنین می تواند بیان گیرنده های پرولاکتین را تحت تأثیر قرار دهد که ویژگیهای آن اخیراً تعیین شده است، بخشی از گیرنده ها که می توانند توسط نورونهای ترشح کننده GnRH بیان شوند چنانکه بر حضور گیرنده های پرولاکتین و mRNA مربوطه، در خط سلولی سلولهای تولید کننده GnRH، تاکید شد. این مشاهده که تداخل عمل پرولاکتین را در ترشح LH پیشنهاد می کند، می تواند، بخشی از عمل مستقیم آن بر سلولهای ترشح کننده GnRH بشمار آید (۱۹).

دیده شده است. در زنان آزمایش پرولاکتین در اولیگومنوره، عدم کفایت جسم زرد و در گالاتواورا، و نیز در مردان و زنان برای کاهش میل جنسی تأکید شده است. همچنین این آزمایش در بیمارانی که برای تومورهای هیپوفیزی درمان شده اند، بخش مهمی از پیگیری ها می باشد. بدلیل تغییرپذیری سطح پرولاکتین آنالیز تکراری نمونه ها در هایپرپرولاکتینمیا باید انجام گیرد (۱۹ و ۶).

پرولاکتین یک هورمون هیپوفیزی بحث انگیز، از نظر شمار و گوناگونی پروسه های فیزیولوژیکی است که کنترل آن را بر عهده دارند (۶ و ۱۹). پرولاکتین در حیوانات سیکل استروس را دو هفته عقب انداخته و جسم زرد را بزرگ می کند. قدرت بزرگ کنندگی جسم زرد (اثر لوتوتروپیک پرولاکتین در پرندگان هیپوفیزکتومی شده ثابت شده است. و اثر استروژن در بزرگ شدن جسم زرد اکنون می تواند بعمل لوتوتروپیک پرولاکتین نسبت داده شود (۱۷). در موش صحرائی تولید مثل بدوره نوری مربوط است و نقش هیپوتالاموس یک اثر نافذ تیروئید در افزایش سریع LHRH در مدیال و بازال هیپوتالاموس، درست قبل از بعد از ظهر بحرانی دوره پرواستروس و چندین پالس

## منابع

- ۱- ابن سینا، قانون در طب، ج ۲، ترجمه: شرفکندی، انتشارات سروش، صفحه ۵۸ و ۵۹، ۱۳۷۰.
- ۲- آزادبخت، محمد، رده بندی گیاهان دارویی، انتشارات تیمورزاده (نشر طبیعت)، تهران، صفحه ۲۵۷-۲۵۵، ۱۳۷۸.
- ۳- بصیری، عبدا... طرحهای آماری در علوم کشاورزی، چاپ ششم، انتشارات دانشگاه شیراز، صفحه ۱۳۷۷، ۵۰.
- ۴- حان کوءیرا، لوءیز کارلوس و خوزه کارنیر و رابرت کلی، بافت شناسی پایه، ترجمه دکتر مهران شارق قهرمان و دکتر محمد ریاضی اصفهانی، نشر کتب دانشگاهی، تهران، صفحه ۶۶۶-۶۱۹، ۱۳۶۹.
- ۵- جعفری، عزیزا...، "گیاهان دارویی استان کهگیلویه و بویر احمد، گزارش طرح تحقیقاتی، جمع آوری، شناسایی، اهلی کردن و بررسی مواد مؤثر گیاهان دارویی"، ۱۳۷۸ (در دست چاپ).
- ۶- شرکت کاوشیار، "کیت های رادیوایمنوآسی برای اندازه گیری کمی مقدار هورمون پرولاکتین در پلاسما یا سرم انسان"، تهران، ۱۳۷۸.
- ۷- میرحیدر، حسین، گنجینه اسرار گیاهان، چاپ اول، انتشارات وحید، ۱۳۶۶.
- ۸- میرحیدر، حسین، معارف گیاهی - کاربرد گیاهان در پیشگیری و درمان بیماریها، چاپ اول، انتشارات نشر فرهنگ اسلامی، جلد ششم تهران، ۴۴۸-۴۵۵، ۱۳۷۳.
- ۹- نورویسی، (Mariya J.)، کتاب آموزشی آنالیز آماری داده ها با Spss 8.0، ترجمه دکتر فتوحی اردکانی و فریبا اصغری
- ۱۰- ناصرزاده، علی، اثر عصاره گیاه پنج انگشت بر مسزاد هورمونهای استروژن و پروژسترون در موش صحرائی ماده، پایان نامه دانشکده علوم دانشگاه شیراز، صفحه ۴۵، ۱۳۷۹.

- 11- Arrington, L. R. 1972. Introductory laboratory animals science, pp: 41-51.
- 12- Bhargava, S. K. 1989. Antiandrogenic effects of the flavonoid-rich fraction of *Vitex negundo* seeds: A histological and biochemical study in dogs. *J. E. pharmacology*,: 327-339.
- 13- Evans, N.P., 1997. Estradiol requirements for induction and maintenance of the gonadotropin-releasing hormone surge: implication for neuroendocrine processing of the estradiol signal. *Endocrinology*, 183(12):5408-5414.
- 14- Farris, E.J. and Griffith, J. Q. 1949. The rat in laboratory investigation,
- 15- Houghton, P. 1994. Herbal products: *Agnus-castus*. *The Pharmaceutical Journal*, 253: 720-721.
- 16- Milemez A.E., Gejdel, H., Sworen, K., Siemieniowski, and Vitex. A.c. 1993. Extract in the treatment of phase defects controlled double blind study". *ARZNEM-FORSCH* 43(7):752-756.
- 7- Morrow, D.A., D.V.M. 1986. The rat. *Morrow 2*, Current therpin theriogenology, pp: 1015-1021.
- 18- Neill, J.D.; Freeman, M.E. and Tilson, S.A. 1971. Control of the proestrus surge of prolactin and luteinizing hormone by estrogen in the rat. *Endocrinol.*, 89: 1448-1453.
- 19- Patton; Fuchs; Hille; Scher; Steiner 1989. Text book of physiology 21ed., Vol.2.
- 20- Prabhakar, Hassina Bano, I. Kumar, M.S., Shamsi and M.S.Y. Khan. 1981. Pharmacological investigations on *Vitex*. *Planta Med*, 43; pp:396-403.
- 21- Ramesh, P.; A.G. Ramachandran Nair; S.S. Subramanian. 1986. Flavon glycosides of *Vitex trifolia*. *Fitoterapia*, 57: 282-283.
- 22- Rechinger, K.H., 1982. *Flora iranica*, Verbenaceae, pp: 5-6.
- 23- Russo, M. and Galletti, C.G. 1996. Medicinal properties and chemical composition of *Vitex agnus-castus* L.: A review. *Acta Hort. ISHS*, 426:105-112.
- 24- Yoshimaga. K., Hawkins, R.A. and Stocker, J.F. 1969. Estrogen secretion by the rat ovary in vivo during the estrus cycle and pregnancy., *Endocrinol.*, (85): 103-112.

## The Effect of "Vitex Agnus Castus" Folio Extract on Serum Prolactin Concentration of Female Rats in Gestation.

Shoorideh Z.M.<sup>1</sup>, A., Azadbakht M.<sup>2</sup>, Zarifkar A.<sup>2</sup>, Jafari A.<sup>2</sup>, and Hossienie Sh.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Biology Dept., Sari University, Sari, I.R. of Iran

<sup>2</sup> Biology Dept., Shiraz University, Shiraz, I.R. of Iran

### Abstract

Vitex agnus castus is a well known plant in herbal medicine from centuries ago e.g. some people used its leaves and fruits for milk increasing. In present research the effects of V.a.c leaf extract on serum concentration of prolactin hormone has been investigated. Selective dosages of V.a.c were orally administrated to the female rats during the days of pregnancy. In the control group of rats the above procedure was applied, but distilled water was administrated instead of V.a.c extract. In order to blood sampling from each rat, at each stage (7<sup>rd</sup> and 15<sup>rd</sup> day of pregnancy) the animal was anaesthetized by inhalation of ether and the fresh blood sample was taken off from its heart and followed by the animal was sacrificed. The serum was separated from each sample by centrifugation. These serums were used for measurement of prolactin hormone by RIA (Radio Immuno Assay) method. The data were analyzed by SPSS, ANOVA, MANOVA and LSD test at  $p < 0.05$ . It is concluded that oral administration of 2, 10 and 70 mg/kg/day of V.a.c leaf extract in 7 day of pregnancy, significantly increased serum prolactin with compared to the control group of rats but not in 15 day. So altogether we concluded that: 1) the effect of V.a.c., is probably dependent on serum prolactin level before administration and dosage of V.a.c. extract and all of dosages had not the same effect. 2) The increase of prolactin level in seven day rats probably is the luteotrophic effect of V. a. c. leaf extract.

**Keywords:** Vitex Agnus Castus, Prolactin, Rat, Pregnancy