

## بررسی اثر عصاره گیاه پنج انگشت (*Vitex agnus castus*) بر رفتارهای شبه اضطرابی در موش های صحرایی اوارکتومی شده

نجمه هنری (MSc)<sup>۱\*</sup>، ایران پور ابولی (PhD)<sup>۲</sup>، الهام حکیمی زاده (MSc)<sup>۱</sup>، علی روحبخش (PhD)<sup>۱</sup>، علی شمسی زاده (PhD)<sup>۱</sup>

رضا وزیری نژاد (PhD)<sup>۱</sup>، محمدرضا رحمانی (MSc)<sup>۱</sup>، حسینعلی رضازاده (MSc)<sup>۱</sup>، پوریا یزدیان (MD)<sup>۱</sup>، محمد الله توکلی (PhD)<sup>۱\*</sup>

۱- مرکز تحقیقات فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

۲- گروه زیست شناسی دانشگاه شهید باهنر کرمان

دریافت: ۹۰/۱۰/۱۴، اصلاح: ۹۰/۱۱/۱۹، پذیرش: ۹۱/۲/۱۳

### خلاصه

**سابقه و هدف:** یائسگی ناشی از توقف فعالیت تخمدان ها بوده و اضطراب یکی از عوارض آن می باشد که به دلیل کاهش سطح استروژن بعد از یائسگی بروز می کند. فیتواستروژن ها استروئیدهای گیاهی هستند که ساختار عملکرد مشابه استروژن دارند. لذا این مطالعه به منظور بررسی اثر گیاه پنج انگشت (*Vitex agnus castus*) که دارای فیتواستروژن بالایی است در موش صحرایی اوارکتومی شده و مقایسه اثر آن با استروژن و تاموکسیفن بر اضطراب انجام شد.

**مواد و روشها:** این مطالعه تجربی بر روی ۳۵ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار با وزن تقریبی ۱۵۰ تا ۲۰۰ گرم که به پنج گروه هفت تایی تقسیم شدند، انجام گردید گروهها به ترتیب شامل کنترل، عصاره گیاه پنج انگشت با دوز ۸۰ mg/kg و ۸ mg/kg، استرادیول والرات با دوز ۴۰ µg/kg و ترکیب تاموکسیفن ۱۰۰ µg/kg و عصاره گیاهی ۸۰ mg/kg بودند. پس از بیهوشی برای ایجاد اوارکتومی، تخمدان در هر طرف از ناحیه شکمی جانبی با دستگاه کوتر به آهستگی جدا شد. بعد از گذشت دو ماه با دستگاه ماز بعلاوه ای شکل (Elevated plus-maze) میزان اضطراب با شاخص های درصد دفعات ورود حیوان به بازوی باز (OAE%) و درصد زمان ورود به بازوی باز (OAT%) در حیوانات به مدت ۵ دقیقه تعیین شد.

**یافته ها:** در این مطالعه عصاره گیاه پنج انگشت با دوزهای ۸۰ mg/kg ( $48/61 \pm 1/25$ ) و ۸ mg/kg ( $36 \pm 7/34$ ) در مقایسه با گروه کنترل ( $21/67 \pm 3/47$ ) درصد زمان ورود به بازوی باز ( $p < 0/001$  و  $p < 0/005$ ) را افزایش داد. اما درصد دفعات ورود حیوان ها به بازوی باز، فقط با دوز ۸۰ mg/kg ( $55/17 \pm 6/91$ ) در مقایسه با کنترل ( $22/74 \pm 2/74$ ) ( $p < 0/005$ ) افزایش یافت و تغییر معنی داری نیز در فعالیت حرکتی صورت نگرفت.

**نتیجه گیری:** یافته های این مطالعه نشان داد که گیاه پنج انگشت اثرات شبه استروژن بر کاهش اضطراب ناشی از اوارکتومی در موش صحرایی دارد.

**واژه های کلیدی:** گیاه پنج انگشت، اضطراب، اوارکتومی، یائسگی.

### مقدمه

زرد چوبه و جنیستین (Genistein) به طور جداگانه به مدت سه ماه در گروهی از موش های اوارکتومی شده مانع از کاهش حافظه و یادگیری شده است (۶و۷). همچنین اثر گیاه فیتواستروژنی سویا در زنانی که تازه وارد یائسگی شده بودند، گر گرفتگی را به طور معنی داری کاهش داد (۸). یائسگی نشانه ای از پایان ظرفیت تولید مثلی زنان است که ناشی از توقف پایدار فعالیت تخمدان ها بوده و سبب پایین آمدن هورمون های جنسی و بالا رفتن سطح LH و FSH می شود. یائسگی دارای عوارضی از جمله گر گرفتگی، خستگی، زود رنجی، نقص در توازن حرکتی (لرزش)، اختلال حافظه، سرگیجه، اضطراب و افسردگی می باشد که

فیتواستروژن ها، استروئید های گیاهی می باشند که ساختار و عملکرد مشابه استروژن دارند. ساختار شیمیایی آن ها از دو فنیل فتالین تشکیل شده که به رستپور استروژن در شرایط داخلی و خارجی باند می شوند (۱و۲). سه دسته اصلی فیتواستروژن ها شامل فلاونوئید، کومستان و لیگنان می باشد که مصرف آنها در رژیم غذایی، رشد سلولهای اپیتلیوم واژن را (که در حالت طبیعی وابسته به استروژن است) در سیتولوژی نشان داده است (۱و۳). مطالعات نشان دادند که استفاده از گیاهان فیتواستروژنی در موش های اوارکتومی مانع از کاهش حافظه و یادگیری می شود (۴و۵)، در یک مطالعه استفاده از گیاهان فیتواستروژن دار مانند

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۹/۲۰/۶۹۰ مرکز تحقیقات فیزیولوژی و فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان می باشد.

\* مسئول مقاله:

آدرس: رفسنجان، دانشگاه علوم پزشکی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی و فارماکولوژی، تلفن: ۰۳۹۱-۵۲۲۹۱۷۱

e-mail: allahtavakoli@gmail.com

گروه هفت تایی تقسیم شدند و تحت شرایط استاندارد آزمایشگاهی در دمای ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی گراد و با دسترسی آزاد به آب و غذای کافی در شرایط مراقبتی یکسانی با سیکل ۱۲ ساعت تاریکی/ روشنایی در طول مطالعه نگهداری شدند. گروه اول که همان گروه کنترل بود، بعد از آنکه اوارکتومی شدند به مدت دو ماه با دوز  $1\text{ mg/kg}$  سالیان گاواژ شدند. گروه دوم پس از عمل جراحی اوارکتومی، با دوز  $8\text{ mg/kg}$  عصاره گیاهی (در یک میلی لیترسالیان) به مدت دو ماه گاواژ شدند. گروه سوم پس از عمل جراحی اوارکتومی، با دوز  $8\text{ mg/kg}$  عصاره گیاهی (در یک میلی لیترسالیان) به مدت دو ماه گاواژ شدند. گروه چهارم پس از عمل جراحی اوارکتومی، به مدت دو ماه با دوز  $40\text{ }\mu\text{g/kg}$  استرادیول والرات (در یک میلی لیترسالیان) گاواژ شدند. گروه پنجم نیز پس از عمل جراحی اوارکتومی، به مدت دو ماه با دوز مشخص  $8\text{ mg/kg}$  عصاره گیاهی و  $100\text{ }\mu\text{g/kg}$  تاموکسیفن (آنتاگونیست استروژن؛ در یک میلی لیترسالیان) گاواژ شدند.

**داروها:** داروهای مورد استفاده شامل عصاره آبی الکلی گیاه پنج انگشت، استرادیول والرات، (تولید شده شرکت داروسازی ابوریحان - ایران) و تاموکسیفن (تولید شده شرکت داروسازی ایران - هورمون  $\alpha$ ) بودند.

**روش تهیه عصاره گیاهی:** این گیاه در اردیبهشت ماه ۱۳۹۰ در استان اصفهان شهرستان خورو بیابانک، روستای بازیاب، در ارتفاع ۱۳۵۰ متری از سطح دریا جمع آوری و توسط کارشناسان هرباریوم مرکزی اصفهان مورد تأیید قرار گرفت (شماره ثبت ۹۲۵۲). میوه خشک گیاه آسیاب شد، ۵۰۰ گرم از آن با اتانول ۵۰ درصد در دستگاه سوکسله عصاره گیری شد و سپس با دستگاه روتاری تبخیر حلال انجام گرفت و در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد در آون خشک شد. در پایان، از پودر حاصله دوزهای مورد نظر در نرمال سالیان تهیه گردید.

**جراحی اوارکتومی:** موش ها با تزریق داخل صفاقی محلول کتامین سولفات  $50\text{ mg/kg}$  و زایلازین  $4\text{ mg/kg}$ ، بیهوش و سپس ناحیه شکمی حیوان تراشیده شد. در طرفین بخش شکمی بین دو پستان ۲ و ۳ کنار عضله ران موش شکافته شد و تخمدان توسط دستگاه کوتر جدا و خارج گردید و در پایان  $22000\text{ }\mu\text{i/kg}$  پنی سیلین عضلانی به هر حیوان تزریق گردید. به مدت شش روز بعد از اوارکتومی اسمیر واژن تهیه شد و در صورتی اوارکتومی موفقیت آمیز در نظر گرفته شد که طرح سرخسی در گسترش اسمیر و همچنین سلول های شاخی مشاهده نمی شدند (۴).

**تست رفتار شبه اضطرابی:** برای سنجش اضطراب، مدل رفتاری ماز بعلاوه ای شکل (Elevated plus-maze) مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۱). این ارزیابی بر اساس مدلی که توسط Pellow و همکارانش برای اولین بار ارائه شد، صورت گرفت (۲۱). این ابزار از جنس چوب و دارای چهار بازو به شکل علامت مثبت (+) است. ابعاد راهروی باز و بسته  $50 \times 10\text{ cm}$  بوده و دو طرف و انتهای راهرو بسته دیواره ای به بلندی  $40\text{ cm}$  دارد که برای جلوگیری از افتادن موش ها در دو طرف و انتهای راهروی باز لبه ای به ارتفاع ۱ سانتیمتر از جنس شیشه نصب گردیده است. چهار راهرو به یک محدوده مرکزی به ابعاد  $10 \times 10$  سانتیمتر منتهی می شوند. ماز توسط پایه هایی در ارتفاع  $50\text{ cm}$  از سطح زمین قرار گرفت. موش ها درون محدوده مرکزی ماز قرار داده شدند، به طوری که رو به یک راهروی باز قرار گیرند. نور مناسب توسط یک لامپ ۱۰۰ واتی که در ارتفاع ۱۲۰ سانتیمتری از مرکز ماز قرار داشت، تامین شد. در مدت ۵ دقیقه ای که حیوان آزادانه در قسمت های مختلف ماز حرکت می کرد، تعداد دفعاتی که حیوان وارد راهروی باز می شد؛ تعداد دفعاتی که حیوان وارد راهروی بسته می شد؛ مدت زمانی

بعضی از این نشانه ها در بین زنان یائسه پیشرفت می کند (۹). یکی از اختلالات رایج در دوران یائسگی اضطراب است (۹). اضطراب به عنوان یک انگیزش و احساس طبیعی تلقی می شود و یک جزء سازشی از پاسخ استرسی حاد تحت شرایطی است که انسجام فردی را تهدید می کند. به هر حال، اگر اضطراب در شدت یا مزمن بودن نامناسب باشد یا با هر نوع خطر حاد همراه باشد یک پاسخ غیرسازشی است یا حتی می تواند یک بیماری روانی باشد (۱۰). فاکتورهای زیادی از جمله ژنتیک، جنسیت و سطح هورمون ها در ایجاد اضطراب نقش دارند (۹ و ۱۰). شیوع اضطراب در زنان بیش از مردان می باشد. شیوع اضطراب در زنان  $30/5\%$  و در مردان  $19/2\%$  گزارش شده است (۱۱). در زنان، سطح بالای دوز پلاسمایی هورمون استروژن میزان اضطراب را کاهش می دهد (۱۲ و ۱۱). موش های صحرایی اوارکتومی رفتارهای اضطرابی بیشتری از موش های صحرایی سالم یا تحت درمان جایگزین با دوز مشخص هورمون استروژن نشان داده اند (۱۲ و ۱۱). همچنین گزارش شده که زنان پس از یائسگی به علت پایین آمدن سطح استروژن دچار اختلالاتی از جمله اضطراب می شوند (۱۳). اضطراب ناشی از یائسگی با درمان های جایگزین با استروژن بهبود می یابد (۱۴ و ۱۵) اما استفاده طولانی مدت از استروژن در زنان یائسه خطر آندومتریوز و سرطان سینه را افزایش می دهد (۱۶ و ۱۷). امروزه محققان به دنبال یافتن درمان جایگزین برای استروژن در زنان یائسه هستند تا ضمن بهره مندی از فواید استروژن از عوارض آن جلوگیری کنند. در این میان، فیتواستروژن ها کانون توجه مطالعات قرار گرفته اند.

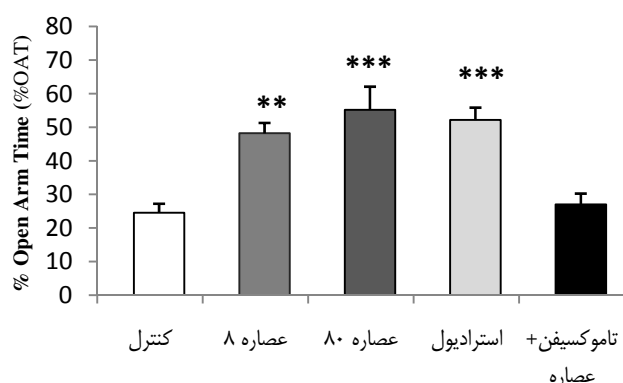
گیاه ویتکس (*Vitex agnus castus*) از خانواده Verbenaceae که دارای دوزهای زیادی از فیتواستروژن می باشد، گیاهی بوته گسترده است که بومی اروپا می باشد اما در بسیاری از نقاط دنیا بخصوص جنوب آمریکا نیز می روید (۱۹ و ۱۸). در ایران گیاه ویتکس نیز می روید که با نام پنج انگشت یا فلفل بیابانی شناخته شده است و از آن به عنوان یک گیاه دارویی استفاده می شود (۱۸). گیاه پنج انگشت حاوی اسانس هایی است که عمدتاً سابی نن، پی نن و سزکوئی ترین ها می باشند. ترکیبات مختلف این گیاه شامل: آلکالوئیدی به نام ویتی سین، مشتقاتی از ایزوفلاون ها (ماده عمده آن کاستی سین) سایر فلاونوئیدها مانند پندولتین و کریزو فانول می باشند. میوه رسیده و خشک آن شامل دو گلیکوزید ایریدوئید آگنوساید و آکوبین می باشد که حاوی فلاونوئیدها و برخی روغن های ضروری است. فلاونوئید این گیاه خاصیت فیتواستروژنی گیاه را اثبات می کند. ترکیبات اسانس میوه این گیاه حاوی سینئول و پی نن هستند (۵). از سوی دیگر خواص درمانی میوه این گیاه سابقاً به عنوان تسکین دهنده قوای شهوانی، نیرو دهنده، اشتها آور، بادشکن و در درمان دردهای قاعدگی توصیه شده و دم کرده سرشاخه های گلدار این گیاه به عنوان ضد تشنج در اختلالات عصبی استفاده گردیده است (۲۰). این گیاه علاوه بر تأثیرات متعدد دیگر با توجه به خاصیت فیتواستروژنی خود ممکن است بتواند جایگزین مناسبی برای استروژن در زنان یائسه باشد. لذا این مطالعه به منظور بررسی اثر عصاره گیاه پنج انگشت که دارای فیتواستروژن بالایی است بر اضطراب در موش صحرایی اوارکتومی و مقایسه اثر آن با استروژن و تاموکسیفن (آنتاگونیست استروژن) انجام شد.

## مواد و روشها

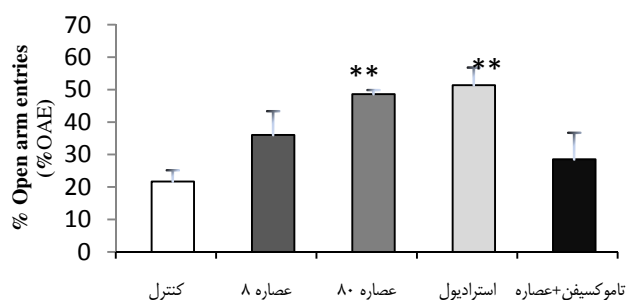
**حیوانات:** در این مطالعه تجربی از ۳۵ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار (Wistar) با وزن ۱۵۰ تا ۲۰۰ گرم استفاده گردید. حیوانات بطور تصادفی به پنج

۱). همچنین استروژن فاکتور OAE را به طور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش داد ( $p < 0.005$ , نمودار شماره ۲) که نشان دهنده اثرات ضد اضطراب این دارو است.

**اثر تاموکسیفن با دوز ۱۰۰ µg/kg و عصاره گیاهی با دوز ۸۰ mg/kg بر رفتارهای شبه اضطراب: گاواژ تاموکسیفن در دوز ۱۰۰ µg/kg** به همراه عصاره گیاهی در دوز ۸۰ mg/kg تفاوت معنی داری در فاکتور OAT و فاکتور OAE (نمودارهای شماره ۱ و ۲) نسبت به گروه کنترل ایجاد نکرده است که نشان دهنده این است که تاموکسیفن (آنتاگونیست استروژن) با کاهش خاصیت فیتواستروژنی عصاره گیاه، رفتارهای شبه اضطراب ایجاد کرده است.



نمودار ۱. بررسی اثر عصاره گیاهی پنج انگشت در دوزهای ۸۰ mg/kg و ۸۰ mg/kg، استرادیول در دوز ۴۰ µg/kg و ترکیب تاموکسیفن و عصاره گیاهی با دوزهای ۱۰۰ µg/kg و ۸۰ mg/kg، بر فاکتور OAT. داده ها به صورت mean ± SEM بیان شده است.  $P < 0.001$  و  $P < 0.005$  در مقایسه با گروه کنترل بوده و N برابر ۷ در هر گروه می باشد.



نمودار شماره ۲. بررسی اثر عصاره گیاهی پنج انگشت در دوزهای ۸۰ mg/kg و ۸۰ mg/kg، استرادیول با دوز ۴۰ µg/kg و ترکیب تاموکسیفن و عصاره گیاهی با دوزهای ۱۰۰ µg/kg و ۸۰ mg/kg، بر فاکتور OAE. داده ها به صورت mean ± SEM بیان شده است.  $P < 0.005$  در مقایسه با گروه کنترل بوده و N برابر ۷ در هر گروه می باشد.

### بحث و نتیجه گیری

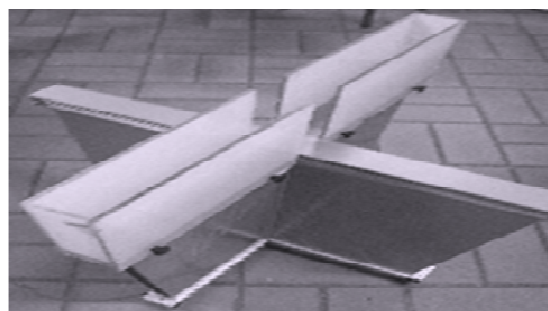
یافته های این مطالعه نشان داد که عصاره گیاه پنج انگشت در دوزهای ۸۰ mg/kg و ۸۰ mg/kg، رفتارهای شبه اضطراب ناشی از اوارکتومی را کاهش می دهد که این اثرات بخصوص در دوز بالای گیاه با استروژن برابری می کند.

که حیوان در راهروی باز باقی می ماند؛ و نهایتاً مدت زمانی که حیوان در راهروی بسته Plus-maze باقی می ماند به روش فیلمبرداری اندازه گیری شد (۲۱). منظور از ورود به راهروی باز یا بسته هنگامی است که هر چهار پای حیوان در راهروی مورد نظر قرار می گرفت. زمان گذرانده شده در هر راهرو نیز بر همین اساس محاسبه شد. برای هر حیوان درصد ورود به راهروی باز و درصد زمان گذرانده شده در راهروی باز به طریق زیر محاسبه شد:

درصد ورود به راهروی باز (%Open Arm Entries; %OAE) =  
تعداد ورود به راهرو باز / تعداد ورود به راهرو باز + تعداد ورود به راهرو بسته × ۱۰۰  
درصد زمان گذرانده شده در راهرو باز (%Open Arm Time; %OAT) =  
مدت زمان گذرانده شده در راهروی باز / مدت زمان گذرانده شده در راهروی باز + مدت زمان گذرانده شده در راهرو بسته × ۱۰۰

افزایش معنی دار هر کدام از دو پارامتر فوق نشان دهنده کاهش اضطراب است اگرچه فاکتور OAE نسبت به فاکتور OAT دارای حساسیت کمتری در ثبت رفتار اضطرابی و یا ضد اضطرابی حیوان است (۲۲).

**فعالیت حرکتی:** برای اندازه گیری فعالیت حرکتی حیوانات از یک جعبه شیشه ای (۳۵cm × ۳۵cm × ۳۵cm) با کف پلاستیکی مشکی استفاده شد. فعالیت حرکتی هر حیوان به مدت ۳۰ دقیقه توسط دوربینی که در بالای جعبه قرار داشت، ثبت گردید. سپس با نرم افزار Ethovision کل مسافت طی شده و متوسط سرعت بر حسب سانتی متر بر ثانیه برای هر حیوان تعیین گردید (۲۳).



شکل ۱. ماز بعلاوه ای شکل (Elevated plus-maze)

برای مقایسه داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و سپس آزمون توکی (Tukey Post-hoc) استفاده شد و  $p < 0.05$  معنی دار در نظر گرفته شد.

### یافته ها

**اثر عصاره گیاه پنج انگشت بر رفتارهای شبه اضطراب:** عصاره گیاهی توانسته است فاکتور OAT را در هر دو دوز ۸۰ mg/kg و ۸۰ mg/kg به طور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش دهد (نمودار ۱) ( $p < 0.001$ ) و  $p < 0.005$ ) همچنین دوز ۸۰ mg/kg گیاه (۵۵/۱۷ ± ۶/۹۱)٪، فاکتور OAE (درصد تعداد دفعات ورود حیوانات گروه های مختلف به بازوی باز) را در به طور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل (۲۴/۵ ± ۲/۷۴)٪ افزایش داد ( $p < 0.005$ ). نمودار شماره ۲) که نشان دهنده اثرات ضد اضطراب این دارو است.

**اثر استرادیول بر رفتارهای شبه اضطراب:** گاواژ استرادیول والرات در دوز (۴۰ µg/kg) نشان داد که این دارو توانسته است فاکتور OAT را به طور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش دهد ( $p < 0.001$ ; نمودار شماره

بهبودی علائم سندرم یائسگی شود که با افزایش دوز مصرفی آن نتایج بهتر هم شده است (۲۸). همچنین در مطالعه دیگری نشان داده شده که گیاه پنج انگشت بر کاهش گرگرفتگی دوران یائسگی موثر بوده است (۵).

نظر به اینکه داروهای گیاهی نیز ممکن است دارای عوارضی باشند و همچنین درمان های جایگزین با گیاهان فیتواستروژنی در طولانی مدت ممکن است عوارض جانبی به دنبال داشته باشند، لذا، لازم است مطالعات بیشتری در خصوص بررسی اثرات جانبی این گیاهان انجام شود و بهتر است بررسی تغییرات هیستولوژیک در بافت های هدف استروژن، نظیر رحم و پستان ها باشد. در مجموع داده های این مطالعه نشان داد که عصاره گیاه پنج انگشت قادر است رفتارهای شبه اضطرابی ناشی از فقدان هورمون های تخمدانی را کاهش دهد به گونه ای که با دوز ۸۰ mg/kg به اندازه استرادیول مؤثر بود. اثر گیاه با آنتاگونیست استروژن مهار شد و لذا احتمالاً گیاه با اثر بر رسپتور استروژن رفتار شبه اضطرابی را کاهش داده است.

### تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان به دلیل حمایت مالی از تحقیق تقدیر و تشکر می گردد.

همچنین آنتاگونیست استروژن اثر ضد اضطرابی گیاه را کاهش داد که بیانگر این است که عصاره گیاه احتمالاً از طریق اثر بر رسپتور استروژن اثر ضد اضطرابی خود را اعمال کرده است. از آنجا که عصاره های گیاه و استروژن بر فعالیت حرکتی حیوانات تأثیری نداشتند، لذا تفاوت در رفتارهای شبه اضطرابی ناشی از تغییر فعالیت حرکتی نبوده است.

Albertazzi و همکاران، در مطالعه ای اثر تغذیه مکمل با سویا بر روی ۵۴ زن یائسه که در روز حداقل ۷ بار دچار گرگرفتگی می شدند را بررسی کردند و متوجه شدند که میزان گرگرفتگی کاهش یافته است (۲۴). Li و همکاران، در مطالعه ای اثر سویا و داروهای سنتی چین را که حاوی فیتواستروژن هستند، بر زنان بررسی و مشاهده کردند که میزان دردهای ناشی از قاعدگی را کاهش می دهد (۲۵). Gallo و همکاران نیز، اثر فیتواستروژن های سویا را بر روی سلول های (MC-7) تومور سینه بررسی کردند و مشاهده نمودند که فیتواستروژن ها مانع از رشد سلول های (MC-7) تومور سینه شده اند (۲۶). Pan و همکاران، که اثر تغذیه مکمل با سویا را بر حافظه و بیان رسپتور BDNF و TrkB مطالعه کردند، نشان دادند که سویا با خاصیت فیتواستروژنی خود حافظه را بهبود بخشیده و بیان رسپتورهای BDNF و TrkB را که باعث رشد سیناپس ها می شوند، افزایش داده است (۲۷). Sami ei و همکاران در مطالعه خود نشان داد که سویا با کمی اختلاف توانسته همانند HRT سبب

## Effect of Vitex Agnus Castus Extraction on Anxiety-Like Behaviors in Ovariectomized Rats

N. Honari (MSc)<sup>1,2</sup>, I. Pourabolli (PhD)<sup>2</sup>, E. Hakimizadeh (MSc)<sup>1</sup>, A. Roohbakhsh (PhD)<sup>1</sup>, A. Shamsizadeh (PhD)<sup>1</sup>, R. Vazirinejad (PhD)<sup>1</sup>, M.R. Rahmani (MSc)<sup>1</sup>, H.A. Rezazadeh (MSc)<sup>1</sup>, P. Yazdian (MD)<sup>1</sup>, M. Allahtavakoli (PhD)<sup>1\*</sup>

1. Physiology-Pharmacology Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

2. Department of Biology, Basic Sciences School, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

J Babol Univ Med Sci; 14(5); Sep 2012; pp: 29-35.

Received: Jan 4<sup>th</sup> 2012, Revised: Feb 8<sup>th</sup> 2012, Accepted: May 2<sup>nd</sup> 2012.

### ABSTRACT

**BACKGROUND AND OBJECTIVE:** Menopause is the cessation of ovarian activity and anxiety is one of its symptoms. Many studies show that anxiety is due to decreased estrogen levels after menopause. Since phytoestrogens are plant sterols that are similar to estrogen in structure and function, so the present study was done to evaluate the effect of vitex agnus castus, which has high levels of phytoestrogen on anxiety in ovariectomized rats and compare its effect with estrogen and tamoxifen.

**METHODS:** In this experimental study thirty-five female Wistar rats (150 to 200g) were divided into five groups as following: control group, Vitex agnus castus at the dose of 80 mg/kg, Vitex agnus castus at the dose of 8 mg/kg, Estradiol valerat at the dose of 40 µg/kg, and the combination of tamoxifen (100 mg/kg) and herbal extract (80mg/kg). All animals were ovariectomized by cauterizing ovaries through bilateral incisions under anesthesia. After two months, anxiety-related indices (% OAE) and (% OAT) was determined using elevated plus-maze test of anxiety for 5 minutes.

**FINDINGS:** Compared to the control group (21.67%±3.47%), Vitex agnus castus extract at the dose of 8 mg/kg (36%±7.34%) or 80 mg/kg (48.61%±1.25) (p<0.005 and p<0.001, respectively) increased the open arm time (%OAT). The plant also increased open arm entries (%OAE) at the dose of 80 mg/kg (55.17%± 6.91% vs. 24.5%± 2.74% in control) (p<0.005). Locomotor activities were not significantly different among groups.

**CONCLUSION:** Based on our data, Vitex agnus castus showed estrogen-like effects on reducing anxiety-like behaviors in ovariectomized rats.

**KEY WORDS:** *Vitex agnus castus*, Anxiety, Ovariectomy, Menopause.

\*Corresponding Author;

Address: Physiology-Pharmacology Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

Tel: +98 391 5229171

E-mail: allahtavakoli@gmail.com

## References

1. Duncan AM, Phipps WR, Kurzer MS. Phyto-oestrogens. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2003;17(2):253-71.
2. Welshons WV, Murphy CS, Koch R, Calaf G, Jordan VC. Stimulation of breast cancer cells in vitro by the environmental estrogen enterolactone and the phytoestrogen equol. *Breast Cancer Res Treat* 1987;10(2):169-75.
3. Wilcox G, Wahlqvist ML, Burger HG, Medley G. Oestrogenic effects of plant foods in postmenopausal women. *BMJ* 1990;301(6757):905-6.
4. Li H, Li SL, Wu ZH, Gong L, Wang JL, Li YZ. Effect of traditional Chinese herbal Bu-Wang-San on synaptic plasticity in ovariectomised rats. *J Pharm Pharmacol* 2009;61(1):95-101.
5. Kazemian A, Boroumand Far Kh, Ghanadi AR, Noorian K. Effect of Vitagnus and Passi-pay on hot flash of menopausal women. *Shahrekord Univ Med Sci J* 2005;7(1):39-45. [in Persian]
6. Ball ER, Caniglia MK, Wilcox JL, et al. Effects of genistein in the maternal diet on reproductive development and spatial learning in male rats. *Horm Behav* 2010;57(3):313-22.
7. Su J, Sripanidkulchai K, Wyss JM, Sripanidkulchai B. Curcuma comosa improves learning and memory function on ovariectomized rats in a long-term Morris water maze test. *J Ethnopharmacol* 2010;130(1):70-5.
8. Samiei H, Sinai S. Effects of hormone replacement therapy compared with soybean (HRT) in relieving menopausal symptoms protests. *J Babol Univ Med Sci J* 2006;7(4):36-43. [in Persian]
9. Hardy R, Kuh D. Change in psychological and vasomotor symptom reporting during the menopause. *Soc Sci Med* 2002;55(11):1975-88.
10. Millan MJ. The neurobiology and control of anxious states. *Prog Neurobiol* 2003;70(2):83-244.
11. Lim L, Ng TP, Chua HC, et al. Generalised anxiety disorder in Singapore: prevalence, co-morbidity and risk factors in a multi-ethnic population. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* 2005;40(12):972-9.
12. Seeman MV. Psychopathology in women and men: focus on female hormones. *Am J Psychiatry* 1997;154(12):1641-7.
13. Arushanian EB, Chernysheva EM. A comparative evaluation of the effect of removal of the epiphysis and damage to the amygdala on the behavioral reactions of rats. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova* 1996;46(4):762-8.
14. Arpels JC. The female brain hypoestrogenic continuum from the premenstrual syndrome to menopause. A hypothesis and review of supporting data. *J Reprod Med* 1996;41(9):633-9.
15. Sherwin BB. Estrogen and cognitive functioning in women: lessons we have learned. *Behav Neurosci* 2012;126(1):123-7.
16. Barnabei VM, Cochrane BB, Aragaki AK, et al. Menopausal symptoms and treatment-related effects of estrogen and progestin in the women's health initiative. *Obstet Gynecol* 2005;105(5 Pt 1):1063-73.
17. Hammond CB. Women's concerns with hormone replacement therapy--compliance issues. *Fertil Steril* 1994;62:157S-160S.
18. Webster DE, Lu J, Chen SN, Farnsworth NR, Wang ZJ. Activation of the mu-opiate receptor by Vitex agnus-castus methanol extracts: implication for its use in PMS. *J Ethnopharmacol* 2006;106(2):216-21.
19. Chen SN, Friesen JB, Webster D, et al. Phytoconstituents from Vitex agnus-castus fruits. *Fitoterapia* 2011;82(4):528-33.
20. Zargari A. Medicinal plants. 4th ed. Tehran: University of Tehran Press 2011; pp: 733-48.
21. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods* 1985;14(3):149-67.
22. Zarrindast MR, Farahvash H. Effects of GABA-ergic drugs on penile erection induced by apomorphine in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 1994;115(1-2):249-53.
23. Rajabi S, Shamsizadeh A, Amini H, et al. Effect of DSP-4 induced central noradrenergic depletion on tactile learning in rat. *Neurol Res* 2012;34(1):80-4.

24. Albertazzi P, Pansini F, Bottazzi M, Bonaccorsi G, De Aloysio D, Morton MS. Dietary soy supplementation and phytoestrogen levels. *Obstet Gynecol* 1999;94(2):229-31.
25. Li M, Poon P, Woo J. A pilot study of phytoestrogen content of soy foods and traditional Chinese medicines for women's health in Hong Kong. *Int J Food Sci Nutr* 2004;55(3):201-5.
26. Gallo D, Ferlini C, Fabrizi M, Prislei S, Scambia G. Lack of stimulatory activity of a phytoestrogen-containing soy extract on the growth of breast cancer tumors in mice. *Carcinogenesis* 2006;27(7):1404-9.
27. Pan M, Li Z, Yeung V, Xu RJ. Dietary supplementation of soy germ phytoestrogens or estradiol improves spatial memory performance and increases gene expression of BDNF, TrkB receptor and synaptic factors in ovariectomized rats. *Nutr Metab (Lond)* 2010;7:75.
28. Samiei H, Sina S. Comparison of the therapeutic effects of soybeans with HRT on menopausal syndrome manifestations. *J Babol Univ Med Sci* 2005;7(4):36-43. [in Persian]