



Fertility Blend[®]

doplňěk stravy

Dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná klinická studie s přípravkem Fertility Blend[®]: nutričního doplňku pro zlepšení plodnosti žen

L. M. Westphal¹, M. D., Assoc. Prof.; M. L. Polan², M. D., Ph.D., MPH, Chair and Prof. Emeritus; A. Sontag Trant³, Ph.D.

^{1,2} Oddělení gynekologie/porodnictví, Lékařská fakulta Stanfordské university, Stanford, Kalifornie

³Viceprezident oddělení výzkumu a vývoje, The Daily Wellness, Mountain View, Kalifornie (USA)

Shrnutí

Cíl

Popsat vliv výživového doplňku na plodnost žen.

Metoda

Dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná klinická studie sledující vliv přípravku Fertility Blend[®] Pro Ženy na hladiny progesteronu, bazální tělesnou teplotu, délku menstruačního cyklu, úspěšnost otěhotnění a na výskyt vedlejších účinků.

Soubor

93 žen ve věku 24–42 let, které se neúspěšně pokoušely po dobu 6–36 měsíců otěhotnět.

Výsledky

Po třech měsících byl u skupiny užívající doplňěk Fertility Blend[®] (FB) (N=53) zaznamenán pouze trend zvýšené průměrné hladiny progesteronu ve střední luteální fázi (P), ale u žen léčených (P<9 ng/ml) bylo zvýšení hladin progesteronu zřetelně statisticky významné. Průměrný počet dní s bazální teplotou v luteální fázi vyšší než 37 °C (98 °F) byl u skupiny užívající FB signifikantně zvýšený, taktéž ve skupině FB došlo k normalizaci a ustálení délky menstruačního cyklu. V placebové skupině u těchto parametrů nedošlo k žádným signifikantním změnám. Po 3 měsících bylo 14 z 53 žen ve skupině FB těhotných (26 %) oproti 4 těhotným ženám ze 40 v placebové skupině (10 %; p=0,01). Další tři ženy ze skupiny FB otěhotněly po 6 měsících užívání FB (32%).

U obou skupin nebyly zaznamenány žádné závažné vedlejší nežádoucí účinky.

Závěr:

Výživový doplňěk FB může mít významnou úlohu při optimalizaci plodnosti, může zvýšit úspěšnost početí, upravuje nepravidelnost menstruačního cyklu a může být efektivním doplňkovým opatřením v léčbě neplodnosti, především v případech nevysvětlitelné neplodnosti.

Klíčová slova:

plodnost; neplodnost; bylinný; nutriční; doplňky; drmek obecný*; L-arginin; progesteron.

Úvod

Využití doplňkové a alternativní medicíny (CAM) v USA postupně narůstá [1]. Byliny jsou pro léčbu neplodnosti využívány již od roku 200 našeho letopočtu. Bylinné produkty mají potenciál využitelný jako doplňěk konvenčních terapeutických postupů. Aplikace doplňků stravy v první fázi léčby může významně zlepšit klíčové fyziologické faktory rozhodující pro plodnost. Nedostatek klinických zkušeností v oblasti aplikace doplňků stravy je pro lékaře a pacienty výzva. Je potřebné zjistit, které léčivé rostliny a nutraceutika jsou neúčinnější, jaké dávky a kombinace jsou bezpečné a jaká je jejich stabilita. Vitaminy, minerály a mikronutrienty jsou velmi významné pro plodnost. Pokud dojde k „nevysvětlitelné“ neplodnosti, mohou být příčinou jemné hormonální dysbalance, stárnoucí reprodukční systém nebo nedostatky ve výživě. Pro svou biologickou účinnost mohou být krokem první volby také léčivé rostliny. Než se přistoupí k agresivnější léčbě „nevysvětlitelné“ neplodnosti, je vhodné ověřit úspěšnost výživových opatření, podpory zdraví reprodukčního systému, modulace hladin ženských hormonů a zlepšení kvalitativních parametrů mužských spermií.



Fertility Blend®

Vitex agnus-castus (drmek obecný)* je bylina, která byla pro léčbu gynekologických onemocnění využívána po staletí. Má slabou modulační aktivitu na metabolismus dopaminu, snižuje hladinu prolaktinu, zvyšuje hladiny luteinizačního hormonu, což vede k lepšímu vývoji žlutého tělíska. Klinické studie v Evropě [2–4] prokázaly zvýšené hladiny progesteronu a zlepšení plodnosti po užívání tinktury z drmků obecných. Loch, E. et al. [5] pozoroval ve studii se souborem 1634 žen užívajících drmek zlepšení plodnosti a zlepšení symptomů premenstruačního syndromu (PMS), nezaznamenal žádné závažné nežádoucí účinky. Drmek redukuje symptomy PMS a nepravidelnost menstruačního cyklu [5–7].

**U varianty přípravku určeného pro evropský trh je z legislativních důvodů standardizovaný extrakt drmků obecných (Vitex agnus-castus) nahrazen standardizovaným extraktem jetele lučního (Trifolium pratense). Přírodní látky obou extraktů vykazují téměř shodnou biologickou účinnost. Flavonové glykosidy drmků moduluji ve fyziologických intencích metabolismus dopaminu. Sekrece luteinizačního hormonu (LH) je kontrolována a řízena řadou neurotransmiterů a dopaminem. V modelovém preklinickém experimentu, kde byly hladiny LH a testosteronu záměrně zvýšeny působením haloperidolu (neuroleptikum), vykazoval drmek významnou modulační aktivitu a zvýšené hladiny snižoval k normálu [24]. Obdobně bylo prokázáno, že i izoflavony genistein a daidzein, jejichž bohatým zdrojem je právě extrakt z květenství jetele lučního, vykazují prokazatelnou modulační aktivitu k dopaminu [25, 26, 27]. U genisteinu byla v modelových preklinických experimentech prokázána i obdobná modulační aktivita na syntézu a sekreci prolaktinu, luteinizačního hormonu a progesteronu [28, 29]. Konečně také příznivá modulační aktivita genisteinu a daidzeinu na reprodukční funkci byla dobře popsána v klinické a preklinické studii, přičemž oba izoflavony vykazují v porovnání s agnusidy drmků vyšší bezpečnost při srovnatelné účinnosti [30, 31, 32, 33].*

Antioxidanty chrání vajíčka, spermie a reprodukční orgány před poškozením volnými radikály. Jako antioxidanty se obvykle používají vitamin C, E a selen, ale také zelený čaj má významnou antioxidantní účinnost. Khalsa [8] uvádí, že katechiny zeleného čaje jsou přibližně stokrát antioxidantně účinnější než vitamin C a 25krát účinnější než vitamin E. Antioxidanty pravděpodobně také působí lépe v kombinacích než samostatně, protože se vzájemně chrání proti oxidaci [9]. Kombinace také umožňuje podávat nižší a bezpečnější dávky antioxidantů a ostatních přírodních látek. Při studiu předpokládaných negativních účinků kofeinu na oplodnění zjistil Caan a kol. [10], že pití čaje (na rozdíl od jiných nápojů obsahujících kofein) zvýšilo dvojnásobně úspěšnost oplodnění během cyklu.

Vitamin B6 [11], vitamin B12 [12], vitamin E [13], kyselina listová s multivitaminy [14], hořčík se selenem [15], železo [16] a zinek s mědí a selenem [17] zlepšily v kontrolovaných studiích plodnost u žen. Užívání kyseliny listové pomáhá také snižovat výskyt vrozených defektů neurální trubice [18], dostatek vitamínu B6 a B12 může snížit riziko předčasného porodu [19].

L-arginin, esenciální aminokyselina, pomáhá zlepšit prokrvení reprodukčních orgánů [20], což může podpořit vývoj vajíčka a implantaci embrya. Battaglia a kol. [21] sledovali Dopplerovým průtokoměrem děložní a folikulární prokrvení po léčbě L-argininem u léčených pacientek s neúspěšným in vitro oplodněním. U skupiny léčené L-argininem bylo pozorováno zlepšení prokrvení dělohy a folikulu, zvýšení počtu zralých vajíček a vyšší úspěšnost při transferu embryí. Ze 17 žen užívajících L-arginin 3 ženy otěhotněly, v kontrolní skupině 17 žen neotěhotněla žádná žena.

Po shrnutí dokumentovaných a předpokládaných mechanismů působení těchto přírodních přípravků můžeme konstatovat, že speciálně vytvořená směs nutričních, léčivých rostlin a L-argininu (Fertility Blend®) může podpořit reprodukční zdraví žen. Pilotní studie [22] účinků doplňku Fertility Blend® prokázala vyšší četnost otěhotnění a zlepšení dalších faktorů spojených s plodností. Na základě těchto pozitivních výsledků studie pokračovala a byly přibírány další pacientky. Protože je tento doplněk volně dostupný, mohou ho užívat i ženy, které nepodstoupily testy na neplodnost. S tímto korespondovalo i schéma studie, která byla otevřena různým skupinám pacientek a zahrnovala také ženy, které nechtěly podstoupit žádné další testování.

Materiály a metodiky

Do studie bylo přijato 93 žen ve věku 24–42 let, které se neúspěšně pokoušely po dobu 6–36 měsíců otěhotnět. Tyto ženy prošly tříměsíční studií. Ani jedna z účastnic nepodstoupila během této studie nebo dva měsíce před zahájením studie žádnou farmakologickou léčbu neplodnosti. Z 93 žen, které absolvovaly etickou komisi schválenou, randomizovanou, dvojitě zaslepenou, placeboem kontrolovanou klinickou studii, užívalo 40 žen placebo (P) a 53 žen užívalo doplněk Fertility Blend®. Pro statistické zhodnocení byl použit Studentův t-test a Bayesiánská analýza binomických dat.

Fertility Blend® je nutriční doplněk obsahující standardizovaný extrakt drmků obecných (0,5 % obsah agnusidů) respektive jetele lučního, extrakt zeleného čaje (50 % obsah polyfenolů), aminokyselinu L-arginin, vitaminy E, B6, B12 a kyselinu listovou, hořčík, zinek a selen. Důkladný přehled publikovaných odborných referencí ke všem obsaženým složkám prokazuje dlouhodobou bezpečnost jejich užívání u žen s různými gynekologickými onemocněními i u potenciálně těhotných žen. Publikace AHPA Botanical Safety Handbook [23] potvrzuje, že se drmek* tradičně používá pro prevenci potratu během prvního trimestru těhotenství v případech s nedostatečnými hladinami progesteronu. Při výrobě obsažených složek a pro výrobu samotného přípravku byly použity nejvyšší standardy kvality a výroba probíhala v režimu správné výrobní praxe.

Výživový doplněk byl podáván v denní dávce 3 tobolky denně a po dobu 3 menstruačních cyklů, hladiny progesteronu byly měřeny ve střední luteální fázi (18–22 den cyklu). Změny bazální tělesné teploty, délka menstruačního cyklu, úspěšnost otěhotnění a výskyt vedlejších účinků byl sledován dva 2 týdny před začátkem a 4 měsíce po ukončení studie.

Hladiny progesteronu v séru ve střední luteální fázi (P) byly vyhodnoceny pomocí imunoassaye na analyzátoru hormonů Immulite 2000 na počátku studie a po třech měsících suplementace (mezi 18–22. den prvního menstruačního cyklu respektive mezi 18–22. den čtvrtého menstruačního cyklu). Všem ženám byl po ukončení studie nadále po dobu 3 měsíců podáván doplněk Fertility Blend® a byl sledován pouze stav těhotenství a vedlejší účinky.

Výsledky

Průměrný věk, hmotnost a doba, po kterou se ženy snažily otěhotnět, se u skupiny FB a P statisticky nelišily (Tabulka 1). Průměrný věk ve skupině FB a P byl 35,4 respektive 34,8 let, průměrná hmotnost byla 67 až 70 kilogramů a průměrná doba, po kterou se ženy snažily otěhotnět před vstupem do studie, byla 19,6 (FB) respektive 20,7 měsíců (P).

Po třech měsících byl zaznamenán u skupiny FB (N=53, oproti 40 ve skupině P) silný trend vzrůstu průměrné hladiny progesteronu ve střední luteální fázi (8,2 do 10,4 ng/ml, p=0,06, Tabulka 2). U žen s nízkou vstupní hladinou progesteronu (<9 ng/ml, 20 žen u skupiny FB a 18 žen u skupiny P) byl ve skupině FB po třech měsících zaznamenáno výrazné signifikantní zvýšení plazmatických hladin progesteronu (z 3,2 na 8,1 ng/ml, p=0,016, Graf 1).

Skupina FB také vykazovala vzrůst průměrného počtu dní v cyklu s bazální tělesnou teplotou vyšší než 37 °C (98,6 °F) během luteální fáze (od 5,5 dne v 1. měsíci na 7,4 dne ve 4. měsíci; p=0,029; Tabulka 3, Graf 2). Ve skupině P nedošlo k žádnému zvýšení (p=0,436).



Tabulka 1.

– Charakteristika probandů a četnost otěhotnění u skupin FB a P.

	Fertility Blend® (N=53)	Placebo (N=40)	hodnota p
Průměrný věk (roky)	35,4	34,8	0,225 ^c
Průměrná hmotnost (kilogramy)	67,358	69,717	0,262 ^c
Průměrný počet měsíců s pokusy otěhotnět ^a	19,6	20,7	0,285 ^c
Počet dosud netěhotných žen (%)	23 (43 %)	14 (38 %)	0,211 ^d
Počet žen bez předchozího vyšetření (%)	12 (23 %)	9 (20 %)	0,503 ^d
Počet žen s endometriózou (%)	3 (6 %)	3 (8 %)	0,652 ^d
Počet žen s ovulační dysfunkcí (%)	12 (23 %)	8 (20 %)	0,392 ^d
Počet žen s nevysvětlitelnou/jinou neplodností (%)	27 (51 %)	19 (50 %)	0,373 ^d
Klinické těhotenství po 3 měsících (%)	14 ^e (26 %)	4 (10 %)	0,012 ^e
Klinické těhotenství po 6 měsících (%) ^b	17 (32 %)	f	
Počet potratů	3/17 (18 %)	1/4 (25 %)	0,709 ^d

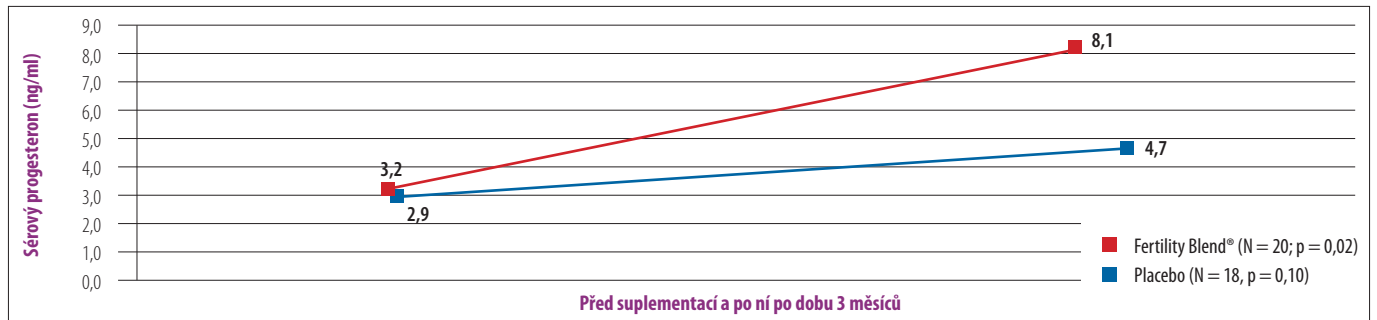
^a) Počet měsíců před vstupem do studie, kdy se ženy pokoušely otěhotnět; ^b) 3měsíční suplementace po ukončení studie, během níž obě skupiny (včetně placebo skupiny) užívaly přípravek FB; ^c) Není signifikantní na hladině významnosti $p=0,05$ při použití Studentova t-testu; ^d) Není signifikantní na hladině významnosti $p=0,05$ při použití Bayesianské binomické analýzy; ^e) Významně vyšší než u skupiny P na hladině významnosti $p=0,01$, při použití Bayesianské binomické analýzy; ^f) Čtyři ženy (10 %) ve skupině P otěhotněly během 3měsíční suplementace po skončení studie, kdy užívaly FB.

Tabulka 2.

– Hladiny progesteronu v séru ve střední luteální fázi u skupin FB a P.

P _{mi} ^a celá skupina	Fertility Blend® (N=53)	Placebo (N=40)	hodnota p ^b
Hladiny progesteronu na začátku studie (ng/ml)	8,2	9,6	0,164
Hladiny progesteronu na konci studie (ng/ml)	10,4	10,0	0,399
p ^b (0 versus 3 měsíce)	0,061	0,389	
P _{mi} ^a < 9 ng/ml	(N=20)	(N=18)	
Hladiny progesteronu na začátku studie (pro < 9 ng/ml)	3,2	2,9	0,236
Hladiny progesteronu na konci studie (pro < 9 ng/ml)	8,1	4,7	0,339
p ^b pro skupinu < 9 ng/ml (0 versus 3 měsíce)	0,016	0,101	

^a) P = hladina progesteronu ve střední luteální fázi v celé skupině a ve skupině s $P < 9$ ng/ml, ^b) p = hladina pravděpodobnosti určená jednopárovým t-testem.



Graf 1. – Ženy s hladinou progesteronu na počátku studie <9 ng/ml.

Tabulka 3.

– Srovnání počtu dní s bazální teplotou vyšší než 37 °C (98 °F) po ovulaci a srovnání délky menstruačních cyklů u skupin FB a P.

	Fertility Blend®	Placebo	p ^c - FB versus P
dny s bazální teplotou vyšší než 37 °C (98 °F) ^a	(N=53)	(N=40)	
1 měsíc	5,5	6,7	NS
2 měsíc	6,9	7,1	NS
3 měsíc	8,1	6,8	NS
4 měsíc	7,4	6,9	NS
p ^c - 1 versus 4 měsíc	0,029	0,436	
menstruační cykly kratší než 27 dn ^b	(N=15)	(N=9)	
1 měsíc	24,2	25,6	<0,01
2 měsíc	27,5	27,4	NS
3 měsíc	27,1	28,0	NS
4 měsíc	27,6	26,1	NS
p ^c - 1 versus 4 měsíc	0,001	0,268	
menstruační cykly delší než 32 dn ^b	(N=11)	(N=6)	
1 měsíc	41,6	35,3	NS
2 měsíc	42,2	34,0	NS
3 měsíc	35,4	32,6	NS
4 měsíc	31,7	29,3	NS
p ^c - 1 versus 4 měsíc	0,017	0,082	

^a) Počet dní v cyklu s bazální teplotou přes 37 °C (98 °F) během luteální fáze.

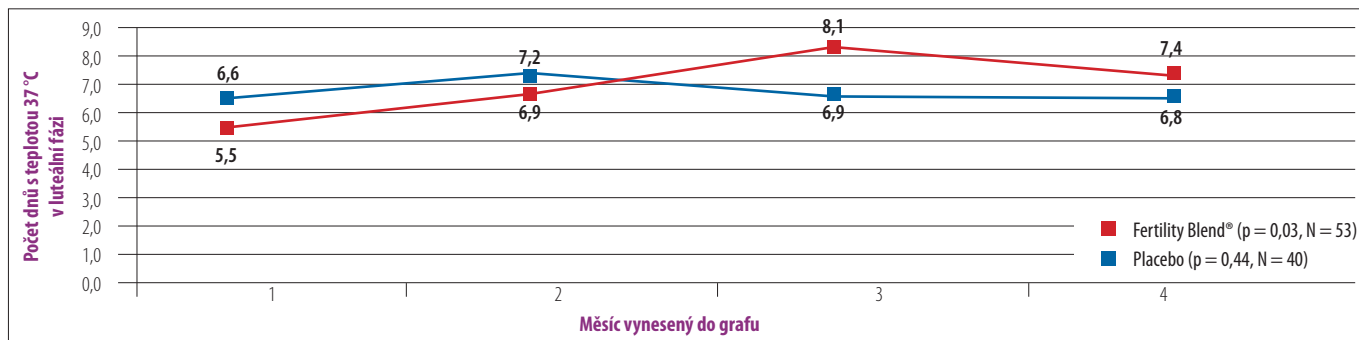
^b) Ženy, které vstoupily do studie s délkou menstruačního cyklu <27 dní nebo >32 dní.

^c) Pravděpodobnost určená jednopárovým t-testem, NS = $p > 0,05$ určeno jednopárovým t-testem

Tabulka 4.

– Vedlejší účinky zaznamenané u skupin FB a P.

	Fertility Blend® (N=53)	Placebo (N=40)
Nevolnost	3	1
Špinění	2	0
Bolest hlavy	2	0
Bolestivost vaječníků	2	1
Zlepšení nálady/PMS	2	1
Větší náladovost/PMS	2	1
Nárůst hmotnosti	1	1
Žácpa	1	0
Citlivost prsou	1	0
Celkem	16	5
Procent	30 %	13 %



Graf 2. – Počet dní s bazální teplotou nad 37 °C (98 °F) v tabulce bazální teploty.

U žen s kratšími cykly ve skupině FB (< 27 dní, N=15 u skupiny FB a N=9 u skupiny P) došlo k signifikantnímu prodloužení průměrné délky menstruačního cyklu (z 24,2 na 27,6 dnů, $p < 0,001$, Tabulka 3). U žen s delšími cykly ve skupině FB (> 32 dní, N=11 u skupiny FB a N=6 u skupiny P) došlo k signifikantnímu zkrácení průměrné délky menstruačního cyklu (z 41,6 na 31,7 dnů, $p = 0,017$, Tabulka 3). Zatímco delší i kratší menstruační cykly byly ve skupině FB normalizovány, délka menstruačních cyklů se ve skupině P signifikantně nezměnila.

Na konci třetího měsíce studie bylo 14 z 53 žen ve skupině FB těhotných (26 %), ve skupině P byly těhotné 4 ženy ze 40 (10,0 %, $p = 0,012$, Tabulka 1). Další tři ženy ze skupiny FB otěhotněly v období 3měsíčního pokračujícího užívání FB, které následovalo po ukončení studie (N = 17, 32 %). 4 ze 40 žen, které byly po dobu řádné 3měsíční studie ve skupině P, otěhotněly po 3měsíčním pokračujícím užívání FB (10 %). Ne všechny ženy po řádném ukončení studie pokračovaly s následným 3měsíčním užíváním FB, což může vysvětlovat pouze 10% úspěšnost s otěhotněním ve skupině P, která byla mnohem nižší než 26% úspěšnost otěhotnění u žen ve skupině FB v řádné 3měsíční studii.

21 žen, které otěhotněly během prvních tří měsíců, bylo ve věku 24 až 41 let (průměrný věk 34,3 let) a o otěhotnění se pokoušely 6 až 36 měsíců (průměr 18,2 měsíce). 11 z 21 žen mělo na počátku studie nízké hladiny progesteronu (<9 ng/ml). U 13 žen ze 14 ve skupině FB, které otěhotněly, byl pozorován větší počet dnů s bazální teplotou v luteální fázi vyšší než 37 °C (98 °F). 4 ženy ze 14 těhotných ve skupině FB měly na počátku studie < 4 dny bazální teploty vyšší než 37 °C a u všech čtyř došlo k vzrůstu na ≥ 10 dní s teplotou přes 37 °C. Naopak pouze u jedné ze čtyř těhotných žen ve skupině P došlo k mírnému vzrůstu počtu dní s teplotou nad 37 °C.

U 21 zaznamenaných těhotenství došlo ke čtyřem potratům (Tabulka 1). Tři z nich (18 %) byly ve skupině FB. Jeden z nich byl způsoben implantací na fibroidní tkáň (potvrzeno ultrazvukem). Jeden potrat (25 %) byl zaznamenan ve skupině P. Míra potratovosti koresponduje s očekávanou mírou pro populaci zkoušejících žen. Jedno těhotenství 41leté ženy bylo ukončeno z důvodu Downova syndromu.

Ve studii nebyly zaznamenány žádné závažné vedlejší účinky. Tři ženy ve skupině FB (jedna ve skupině P) si stěžovaly na lehkou nevolnost, když užívaly přípravek nalačno, nevolnost se dále nevyskytla při užívání přípravku s jídlem. Dvě ženy ze skupiny FB udávaly špinění nebo bolesti hlavy a jedna žena udávala zácpu nebo citlivost prsou, tyto vedlejší účinky nebyly zaznamenány ve skupině P. V obou skupinách byly zaznamenány různé kombinace pozorovaných vedlejších účinků (Tabulka 4). Zlepšení menstruačního cyklu bylo zaznamenáno jako „vedlejší účinek“ častěji ve skupině FB, ale vzhledem k výše uvedeným souvislostem byl vyhodnocen jako účinek očekávaný a příznivý.

Diskuze

V předemné studii nutriční suplementace FB významně zvýšila průměrné hladiny progesteronu v luteální fázi, zvýšila průměrný počet dní v cyklu s bazální teplotou vyšší než 37 °C (98 °F), normalizovala délku menstruačního cyklu a vyústila v signifikantně vyšší úspěšnost v otěhotnění ve skupině FB v porovnání se skupinou P. Zvýšená úspěšnost otěhotnění po této doplňkové výživě může pomoci změnit terapeutický přístup k nevysvětlitelné neplodnosti nebo k ovulačním dysfunkcím. Doplňková výživa je jednoduchým a dobře tolerovaným postupem ke zlepšení plodnosti u některých žen.

Vzhledem k příznivým výsledkům této studie, vzhledem k prokázané schopnosti přípravku zlepšit fyziologické faktory důležité pro plodnost, vzhledem k jeho bezpečnosti a účinnosti můžeme doporučit použití FB jako přípravku první volby, ještě před použitím invazivnějších metod léčby. Oblast doplňkové výživy zlepšující plodnost žen je mimořádně výzkumně zajímavá.

Shrnutí

Výživové doplňky mohou hrát významnou úlohu při optimalizaci plodnosti, mohou zvýšit úspěšnost otěhotnění a mohou nabídnout efektivní alternativu nebo doplňkovou léčbu k tradičním terapeutickým postupům neplodnosti, především v případě menstruační nepravidelnosti nebo nevysvětlitelné neplodnosti. Doplňek Fertility Blend® je atraktivní možností pro příznivou modulaci a optimalizaci reprodukčního zdraví žen bez nežádoucích účinků. Dobrá výživa je nezbytná pro plodnost a úspěšný porod, a to především u žen, které chtějí otěhotnět v pozdějším věku.

Poděkování

Velmi děkujeme Laboratoři REI ze Standfordské nemocnice, kde byly provedeny analýzy progesteronu, Bhagyashree Kelschikarové za dozorování studie a Nadaci Davida Sen Lina za finanční podporu.

REFERENCE

- [1] Kessler R.C., Davis R.B., Foster D.F., VanRampoy M.L., Walters E.E., Wilkey S.A. et al.: "Long-term trends in the use of complementary and alternative medical therapies in the United States". *Ann. Intern. Med.*, 2001, 135, 262.
- [2] Propping D., Katzorke L., Belkien L.: "Diagnosis and therapy of corpus luteum deficiency in general practice". *Therapiewoche*, 1988, 38, 2992.
- [3] Milewicz A., Gajdel E., Sworen H., Sienkiewicz K., Jedzjak J., Teucher T. et al.: "Vitellosus-cystus in the treatment of luteal phase defects due to latent hyperprolactinemia: Results of a randomized placebo-controlled double-blind study". *ArzneimForschDrug. Res.*, 1993, 43, 752.
- [4] Gerhand II, Patek A., Manga B., Blank A., Gorkow C.: "Mastodynon® bei weiblicher Sterilität". *Forsch Komplementarmed.*, 1998, 5, 272.
- [5] Loch E., Sells H., Bobitz N.: "Treatment of premenstrual syndrome with a phytopharmaceutical formulation containing Vitex agnus-castus". *J. Women's Health and Gender-Based Med.*, 2000, 9, 315.
- [6] Schellenberger R. for the study group: "Treatment for the premenstrual syndrome with agnus-castus fruit extract: prospective, randomized, placebo controlled study". *Br. Med. J.*, 2001, 322, 134.
- [7] Peters-Welter C., Albrecht M.: "Menstrual abnormalities and PMS. Vitex agnus-castus in a study of application". *Therapiewoche Gynakol.*, 1994, 7, 49.
- [8] Khalifa K.P.S.: "Spotlight on green tea extract". *NeutraceuticalsWorld*, July/August 1999.
- [9] Haas E.M.: "Staying Healthy with Nutrition". Celestial Arts, Berkeley, CA, 1992.
- [10] Gan R., Quesenberry C.P., Coates A.O.: "Differences in fertility associated with caffeinated beverages". *Am. J. Public Health*, 1998, 88, 270.
- [11] Abraham G.E., Hargrove J.T.: "Reported in Medical World News". *March*, 19, 1979.
- [12] Bennett M.: "Vitamin B12 deficiency, infertility and recurrent fetal loss". *J. Reprod. Med.*, 2001, 46, 209.
- [13] Boyer R.: "Treatment of infertility with vitamin E". *Int. J. Fertil.*, 1960, 5, 70.
- [14] Ceizel A.E.: "Preconception folic acid containing multivitamin supplementation". *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 1998, 78, 151.
- [15] Howard J.M., Davies S., Hunnisett A.: "Red cell magnesium and glutathione peroxidase in infertile women – effects of oral supplementation with magnesium and selenium". *Magnes. Res.*, 1994, 7, 49.
- [16] Bushan D.H., Ramsay J.D., Gilkes J.H., Norris M.J.: "Ferritin and fertility". *Lancet*, 1991, 337, 1554 (letter).
- [17] Bedalov S., Bahayana A.: "Zinc, copper and selenium in reproduction". *Experientia*, 1994, 50, 626.
- [18] Centers for Disease Control and Prevention (CDC): "Spina bifida and an encephaly before and after folic acid mandate – United States, 1995–1996 and 1999–2000". *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.*, 2004, 7, 53, 362.
- [19] Ronnenberg A.G., Goldman M.B., Chen D., Aitken L.W., Willett W.C., Selhub J., Xu X.: "Preconception homocysteine and B vitamin status and birth outcomes in Chinese Women". *Amer. J. Clin Nutr.*, 2002, 76, 1385.
- [20] Burnett A.L.: "Nitric oxide control of lower genitourinary tract functions: A review". *Urology*, 1995, 45, 1071.
- [21] Battaglia C., Salvatori M., Maxia N., Petraglia F., Facchinetti F., Volpe A.: "Adjuvant L-arginine treatment for in-vitro fertilization in poor responder patients". *Human Reproduction*, 1999, 14, 1690.
- [22] Westphal L.M., Polan M.L., Trant A.S., Mooney S.B.: "A nutritional supplement for improving fertility in women. A pilot study". *J. Reprod. Med.*, 2004, 49, 289.
- [23] American Herbal Products Association's: "Botanical Safety Handbook". CRC Press, New York, NY, 1997.
- [24] Nasri, S., Oryan, S., Rahani, A.H., Amin, G.R. The effects of Vitex agnus-castus extract and its interaction with dopaminergic system on LH and testosterone in male mice. *Pak J BiolSci*, 10 (14), 2007:2300-2307.
- [25] Suresh, P., Raju, A.B. Antidopaminergic effects of leucine and genistein on schizophrenia rat models. *Neurosciences (Riyadh)*, 18 (3), 2013:235-241.
- [26] Chintia, S.J., Ganesan, A., Reis-Rodrigues, P., Lithgow, G.J., Andersen, J.K. Anti-inflammatory role of the isoflavone daidzein in lipopolysaccharide-stimulated microglia: implications for Parkinson's disease. *Neurotox Res*, 23 (2), 2013:145-153.
- [27] Gao, Q.G., Xie, L.X., Wang, M.S., Chen, W.F. IGF-1 receptor signaling pathway is involved in the neuroprotective effect of genistein in the neuroblastoma SK-N-SH cells. *Eur J Pharmacol*, 677 (1-3), 2012:39-46.
- [28] Gorskí, K., Gajewska, A., Romanowicz, K., Misztal, T. Genistein-induced pituitary prolactin gene expression and prolactin release in ovariectomized ewes following a series of intracerebroventricular infusions. *Reprod Biol*, 7 (3), 2007:233-246.
- [29] Romanowicz, K., Misztal, T., Barcikowski, B. Genistein, a phytoestrogen, effectively modulates luteinizing hormone and prolactin secretion in ovariectomized ewes during seasonal anestrus. *Neuroendocrinology*, 79 (2), 2004:73-81.
- [30] Filliberto, A.C., Mumford, S.L., Pollack, A.Z., Zhang, C., Yeung, E.H., Schlegel, K.C., Perkins, N.J., Waxtafski-Wende, J., Schisterman, E.F. Usual dietary isoflavone intake and reproductive function across the menstrual cycle. *Fertil Steril*, 100 (6), 2013:1727-1734.
- [31] Zhao, X., Shao, T., Wang, Q.Q., Lu, X.L., Liu, J.B., Zhou, W.D. The phytoestrogen daidzein may affect reproductive performance of Zhedong White geese by regulating gene mRNA levels in the HPG axis. *Br PoultSci*, 54 (2), 2013:252-258.
- [32] Zin, S.R., Omar, S.Z., Khan, N.L., Musameh, N.L., Das, S., Kassim, N.M. Effects of the phytoestrogen genistein on the development of the reproductive system of sprague Dawley rats. *Clinics (Sao Paulo)*, 68 (2), 2013:253-262.
- [33] Ozazaki, K., Ozazaki, S., Nakamura, H., Kitamura, Y., Hatayama, K., Wakabayashi, S., Tsuda, T., Katsumata, T., Nishikawa, A., Hirose, M. A repeated 28-day oral dose toxicity study of genistein in rats, based on the Enhanced OECD Test Guideline 407* for screening endocrine-disrupting chemicals. *Arch Toxicol*, 76 (10), 2002:553-559.