



Linnéuniversitetet

Kalmar Växjö

Fakulteten för hälso- och livsvetenskap

Examensarbete

Ashwagandha

En litteraturstudie som undersöker ashwagandhas effekt på kortisolvärden



Namn: Kevin Bexander
Handledare: Ulyana Muñoz-Acuña
Termin: VT 2024
Ämne: Farmaci
Nivå: Grundnivå
Kurskod: 2FA03E

Ashwagandha

Kevin Bexander

**Examensarbete i Farmaci 15hp
Filosofie Kandidatexamen
Farmaceutprogrammet 180hp
Linnéuniversitetet, Kalmar**

Handledare

Ulyana Muñoz-Acuña
Universitetslektor

Inst. för Kemi och Biomedicin
Linnéuniversitetet SE-391 82
KALMAR

Examinator

Marko Usaj
Forskningsingenjör

Inst. för Kemi och Biomedicin
Linnéuniversitetet SE-391 82
KALMAR

Sammanfattning

Withania somnifera L. (Dunal) är en ört med rötter inom den ayurvediska medicinen och dess användning sträcker sig nästan 3000 år tillbaka i tiden. Den kallas även ashwagandha och har fått ökad uppmärksamhet för sina potentiella hälsofördelar. Den anses vara en adaptogen med förmåga att hjälpa kroppen att hantera stress och främja återhämtning, tack vare sina huvudsakliga aktiva föreningar, withanolider. Traditionellt har ashwagandha använts för att lindra stress och främja välbefinnande. Kortisol är ett stresshormon frisatt av binjurarna, som spelar en avgörande roll i kroppens stressrespons. Kronisk exponering för höga nivåer av kortisol kan leda till negativa hälsokonsekvenser. Därför syftade detta litteraturarbete till att undersöka ashwagandhas potentiella effekter på kortisolnivåerna hos människor. Detta undersöktes genom en litteraturanalys av fyra randomiserade, dubbelblinda, placebokontrollerade studier som hittades genom databasen PubMed. Studie 1 visade en signifikant minskning av kortisolnivåerna med 23% hos deltagare som behandlades med ashwagandha jämfört med placebogruppen under en 60-dagarsperiod. Liknande resultat observerades i studie 2, där deltagare som fick ashwagandha visade signifikant minskning av kortisolnivåerna med 22,2% jämfört med placebogruppen under en 8-veckorsperiod. I studie 3 fanns en tendens till minskade kortisolnivåer med 7,8% hos deltagare som behandlades med ashwagandha, även om skillnaden inte var statistiskt signifikant jämfört med placebogruppen. I studie 4 observerades en betydande minskning av morgonkortisolnivåer med 10,9% och eftermiddagskortisolnivåer med 17,1% hos deltagare som fick ashwagandha under 60 dagar. Men när vi jämförde med placebogruppen var endast minskningen av morgonkortisolnivåerna statistiskt signifikant, medan skillnaden i eftermiddagskortisolnivåer inte var signifikant. Sammanfattningsvis tyder resultaten från dessa studier på att ashwagandha kan vara en effektiv metod för att minska kortisolnivåerna hos vuxna individer som upplever olika former av stress. Vidare forskning behövs för att utforska ashwagandhas effekter på olika befolkningsgrupper och deras unika stressprofiler. Längre studier med större populationer krävs också för att fastställa dess säkerhet och effektivitet.

ABSTRACT

Withania somnifera L. (Dunal), commonly known as ashwagandha, is an herb with roots in ayurvedic medicine dating back almost 3000 years, and it has garnered increased attention for its potential health benefits. It is considered an adaptogen, capable of assisting the body in managing stress and promoting recovery, due to its main active compounds, the withanolides. Traditionally, ashwagandha has been used to alleviate stress and promote well-being. Cortisol, a stress hormone released by the adrenal glands, plays a crucial role in the body's stress response. Chronic exposure to high levels of cortisol can lead to negative health consequences. Therefore, the aim of this literature review was to investigate ashwagandha's potential effects on the cortisol levels in humans. This was examined through the analysis of four randomized, double-blind, placebo-controlled studies found through the PubMed database. Study 1 showed a significant reduction in cortisol levels with 23% in participants treated with ashwagandha, compared to the placebo group over a 60-day period. Similar results were observed in study 2, where participants receiving ashwagandha exhibited decreased cortisol levels with 22,2% compared to the placebo group over an 8-week period. Study 3 indicated a trend towards decreased cortisol levels with 7,8% in participants treated with ashwagandha, although a reduction was detected the difference was not significant compared to the placebo group. In study 4, a significant decrease in morning cortisol levels by 10.9% and afternoon cortisol levels by 17.1% was observed in participants who received ashwagandha for 60 days. However, when compared to the placebo group, only the decrease in morning cortisol levels was statistically significant, while the difference in afternoon cortisol levels was not significant. In conclusion, the results of these studies suggested that ashwagandha may be an effective method for reducing cortisol levels in adult individuals experiencing various forms of stress. Further research is needed to explore ashwagandha's effects on different population groups and their unique stress profiles. Longer studies with larger populations are also required to establish its safety and effectiveness.

FÖRKORTNINGAR

ACTH	Adrenokortikotropt hormon
CBG	Kortisolbindande globulin
CLIA	Chemiluminescence immunoassays
CRF	Kortikotropinfrisättande faktor
DHEA-S	Dehydroepiandrosteron-sulfat
EMA	European Medicines Agency (Europeiska läkemedelsmyndigheten)
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
GAD-7	Generalized Anxiety Disorder-7
GR	Glukokortikoidreceptorer
HMPC	Committee on Herbal Medicinal Products
HPA-axeln	Hypotalamus-hypofys-binjureaxeln
PSS	Perceived Stress Scale
THMP	Traditional Herbal Medicinal Products

Innehållsförteckning

INTRODUKTION	- 1 -
Ashwagandha	- 1 -
Aktiva komponenter	- 2 -
Klassificering av ashwagandha	- 3 -
<i>Kortisol</i>	- 4 -
Binjurar	- 4 -
Regleringen av glukokortikoider	- 5 -
Negativ återkoppling och långvarig behandling	- 5 -
Mekanism för glukokortikoidverkan	- 6 -
Mätning av kortisol	- 6 -
Kortisols effekter	- 6 -
<i>Stress</i>	- 7 -
Kronisk stress	- 7 -
SYFTE	- 8 -
MATERIAL OCH METOD	- 8 -
RESULTAT	- 9 -
Studie 1	- 9 -
Studie 2	- 10 -
Studie 3	- 11 -
Studie 4	- 12 -
<i>Studie</i>	- 14 -
DISKUSSION	- 15 -
TACK	- 18 -
REFERENSER	- 19 -

INTRODUKTION

Ashwagandha

Medicinalväxten *Withania somnifera* L. (Dunal), kallas även ashwagandha och är även känt som indisk ginseng eller *winter cherry*. Det vetenskapliga namnet på växten är *Withania somnifera*, men ursprunget till namnet ashwagandha kan härledas från det sanskritiska ordet *ashwa*, vilket betyder häst, troligtvis på grund av den föreslagna kraften och styrkan som sägs uppnås efter konsumtion av växten. Ordet *gandha* åsyftar doften på den karakteristiska lukten av växtens rot (1). Namnet antyder således att ashwagandha kan associeras med styrka, karaktär och uthållighet, likt en häst (2).

Växtens användning sträcker sig nästan 3000 år tillbaka inom den traditionella ayurvediska medicinen och den är naturligt förekommande i bland annat Indien och Kina, men den odlas även i andra regioner i världen. Den växer bland annat i medelhavsländerna, Afrika och Himalayaområdena (1). Ashwagandha benämns ofta som en s.k. *adaptogen*, vilket inkluderar örter och även svampar med hälsofrämjande egenskaper. Dessa hjälper kroppen att stärka dess motståndskraft mot de skadliga effekterna av stress och underlättar återhämtningen efter stressande situationer. Adaptogener administreras vanligtvis som örttillskott antingen i kapselform eller pulverform, och kan även intas som te eller tillsätts i soppor och drycker. Studier visar på att ashwagandha påverkar de hormonutsöndrande körtlarna under stress. Stressaxeln består av hypothalamus, hypofysen och binjurarna. Hypotalamus-hypofys-binjureaxeln (HPA-axeln), som är central vid reglering av kroppens fysiologiska respons vid stress (3).

Trötthet	Smärta	Stress
Diabetes	Epilepsi	Gastrointestinala problem
Främja ungdom och långt liv	Inflammation	Muskler
Spermatogenes	Benmärgen	m.m

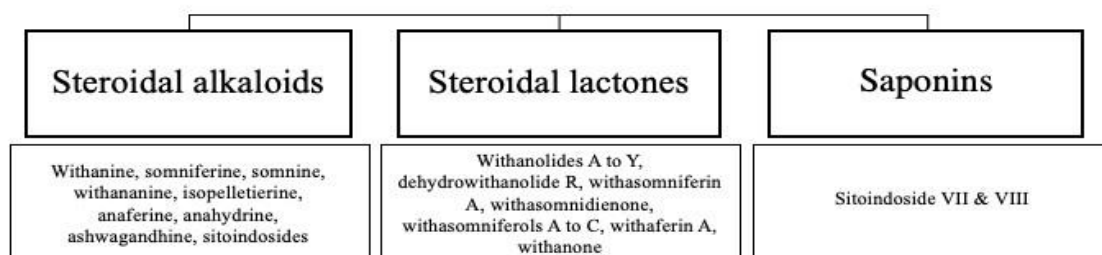
Figur 1. Sammanställning av ashwagandhas påstådda effekter. Figuren är skapad av författaren till examensarbetet.

Sedan tidigare är ashwagandha i litteraturen en känd ört som använts för att behandla ett brett spektrum av olika åkommor, inklusive stress, trötthet, smärta och hudsjukdomar. Dess fördelaktiga egenskaper sträcker sig också till att inkludera positiva effekter på även sjukdomstillstånd som diabetes, reumatoid artrit, epilepsi och även vid behandling av gastrointestinala problem. Utöver detta betraktas ashwagandha som ett allmänt tonikum som kan bidra till att öka energinivåerna, förbättra hälsan och främja en längre livslängd (4). Det påstås också att växten främjar ungdom och långt liv, samt lindrar lidande. Dessutom anses växten vara fördelaktig för äldre genom att ge energi och lindra smärta, inflammation och nervös svaghet (2). Särskilt för män hävdas det att ashwagandha kan stärka benmärgen, musklerna och förbättra spermatogenesisen (1,5), se figur 1.

Ashwagandha innehåller en rad aktiva föreningar. De fytokemiska föreningarna som är mest väldokumenterade är; steroidala laktoner och steroidala alkaloider som båda benämns, withanolider, se figur 2. Forskning har visat att withanolidernas antiinflammatoriska egenskaper liknar de som är kända för hydrokortisons, och dess lugnande effekter på hjärnan och på det centrala nervsystemet tros bero på dess interaktion med GABA-receptorerna. Withanolider finns i både rötter och blad och de har visat sig ha liknande biologiska effekter som steroider (4) men trots att det är withanolider som tros ge ashwagandha dess påstådda effekter, finns det prekliniska studier som tyder på att även andra föreningar i växten kan vara involverade (6).

Ashwagandha

Chemical constituents

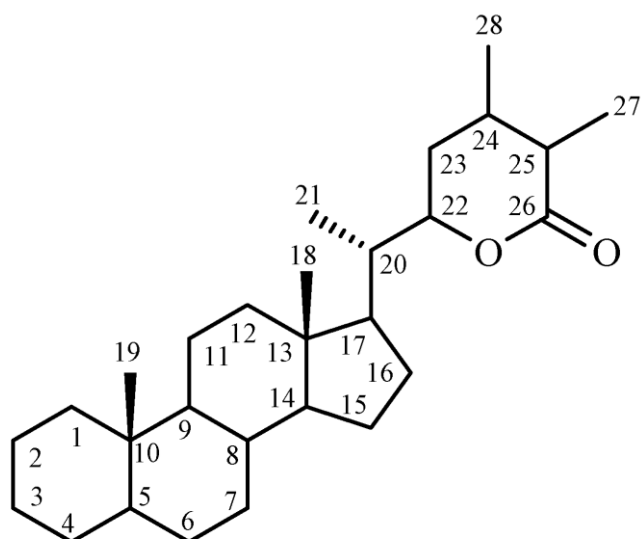


Figur 2. De mest väldokumenterade aktiva föreningar av ashwagandha. Figuren är skapad av författaren till examensarbetet med inspiration från Elseviers artikel "Nootropic potential of Ashwagandha leaves" (7).

I dagsläget marknadsförs ashwagandha vanligtvis som ett kosttillskott med påstående om förbättrad hälsa vid stress, reducerad ångest, bättre sömn, och det har även gynnsamma effekter på manlig infertilitet samt att det ökar prestanda vid fysisk träning. För dessa kosttillskott är växtinnehållet oftast bestående av rot, blad eller en kombination av både rot- och bladextrakt av växten (8).

Aktiva komponenter

De biologiskt aktiva beståndsdelarna i ashwagandha har identifierats primärt i dess blad, rötter och frukter (9) och består av steroidala alkaloider och steroidala laktoner. Gemensamt kallas dessa för withanolider (7). Dessa föreningar är baserade på ett naturligt förekommande ergostan-skelett med 28 kolatomer, där kol 22 och 26 har oxiderats för att bilda en sexledad laktonring. Denna kemiska grundstruktur är känd som ett withanolidskelett, vilket framgår av figur 3 (10). Hittills har över 40 olika withanolider isolerats från ashwagandha, inklusive nyupptäckta kemiska strukturer såsom withanon och withaferin A (11), samt withanolider A-D (12). Vidare har både rötter och blad av växten visat sig innehålla withanolidglykosider (13), kända som withanosider (12), där en glukosmolekyl är bunden till kol 3 eller 27 på withanolidskelettet (11). Dessutom har sitoindosider isolerats från växten, vilka är liknande föreningar där glukosmolekylen är bunden endast till kol 27 (10), även dessa har lokaliserats i extrakt från både rötter och blad (9).



Figur 3. Struktur av withanolidskelett. Källa: (10). Upphovsperson: [Mirjalili MH et al] Licens: <http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/> Ej modifierad från original.

Klassificering av ashwagandha

Inom EU är det tillåtet att använda växtbaserade läkemedel. Det finns en kommitté som granskar växtbaserade läkemedel – Committee on Herbal Medicine Products (HMPC), som är en del av den europeiska läkemedelsmyndigheten (EMA). Denna kommitté sammanställer gemensamma monografier för specifika växtbaserade material samt beredningar för att underlätta harmoniseringen för godkännande- och registrering för både växtbaserade- och traditionella växtbaserade läkemedel inom EU.

Dessa monografier innehåller information om säkerhet, dosering, interaktioner och mera och kan därmed ersätta viss krävd dokumentation som är nödvändig vid en ansökningsprocess gällande effekt- och säkerhetsbedömningar av en växt (14).

EU-monografier är uppdelade i två avsnitt, en del ”marknadsgodkännande” som används vid en väl etablerad användning som har tillräcklig med information om säkerhets- och effektivitetsdata gällande användandet av växten, och en annan del bestående av ”förenklad registrering” som är avsett för traditionell användning av läkemedelsväxter med väl etablerad användning, tillräckliga säkerhetsdata och rimlig effektivitet.

Värt att notera är att varje växtbaserad beredning bedöms individuellt eftersom tillgänglig information kan variera mellan beredningarna. Detta resulterar i att vissa beredningar hamnar i avsnittet för väl etablerad användning medan andra placeras i avsnittet för traditionell användning (15).

För att ett traditionellt växtbaserat läkemedel ska kunna godkännas av EMA genom den förenklade registreringsprocessen, krävs inget genomförande av kliniska tester eller prövningar av säkerhet och effektivitet, under förutsättning att tillräckliga säkerhetsdata och rimlig effektivitet kan redovisas. Denna bedömning bygger på tidigare publicerade vetenskapliga studier och rapporter som belyser läkemedlets säkerhets- och effektivitetsprofil, vilket minskar behovet av att genomföra nya kliniska prövningar. För att kvalificera sig för denna förenklade registrering via EMA måste produkten ha använts i minst 30 år, varav minst 15 år inom en EU-medlemsstat. Vidare måste produkten vara avsedd att användas utan direkt övervakning av en medicinsk utövare och får inte administreras genom injektion (16).

Kommittén för växtbaserade läkemedel inom den europeiska läkemedelsmyndigheten, HMPC inledde den 15 juli 2011 en process för att utveckla en standardiserad monografi för identifiering och användning av ashwagandha som ett traditionellt växtbaserat läkemedel ett s.k. ”Traditional Herbal Medicinal Products” (THMPs) inom den Europeiska unionen (EU). Efter det att de ska ha granskat den inskickade vetenskapliga data, fann HMPC att det inte fanns tillräckligt med bevis för att fastställa en gemensam monografi för ashwagandha. Detta beslut meddelades i ett offentligt uttalande den 15 november 2011.

HMPC ansåg att det saknades nödvändiga specifikationer för växtextrakt som tillverkats, de uppfyllde därmed inte kraven som enligt de farmaceutiska kvalitetskraven gäller inom EU. Dessutom fanns det inte tillräcklig dokumentation för att uppfylla EU-kravet på minst 30 års dokumenterad medicinsk användning, varav minst 15 år i en EU-medlemsstat för ashwagandha med en specifik beredning. Följaktligen fanns det vid tidpunkten för uttalandet inga kända ashwagandha-haltiga THMPs som hade erhållit marknadsgodkännande i någon EU-medlemsstat (17).

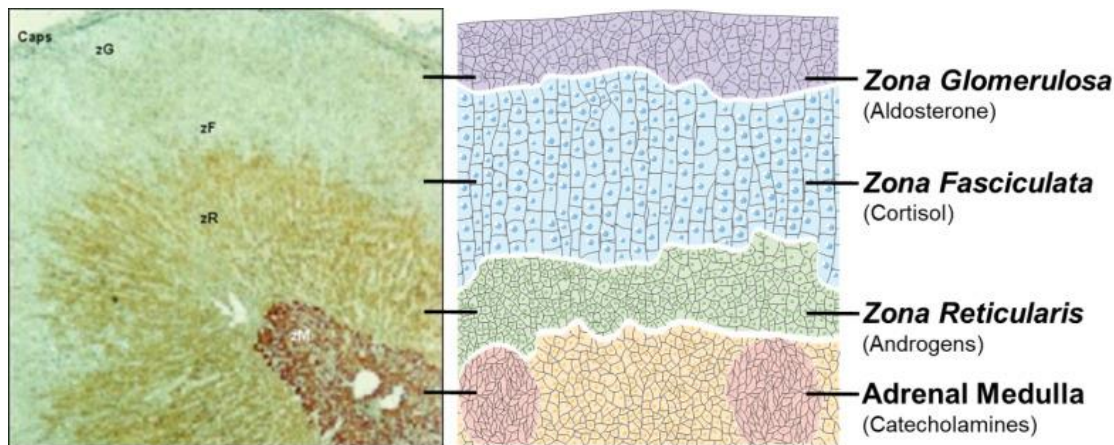
Ashwagandha är därför inte formellt registrerat som ett traditionellt växtbaserat läkemedel i Sverige och inte heller i USA (8). I stället är det ett populärt växtbaserat kosttillskott. Det är främst roten som används som en huvudingrediens i många produkter som påstår sig ha potential att minska stress och förbättra sömnen (18). Marknadsföring av kosttillskott får inte innehålla påståenden om att det skulle kunna användas för att förebygga sjukdomar, inte heller behandla eller bota någon sjukdom. Eftersom det klassificeras som ett kosttillskott definieras det juridiskt och författningsmässigt som ett livsmedel (19) och regleras av livsmedelslagstiftningen. Därmed kan det säljas i detaljhandeln inklusive apotek, om det uppfyller de krav som gäller för försäljning av livsmedel. Det är värt att notera att hur ashwagandha klassificeras och hur användningen regleras och att den kan variera mellan olika länder (20).

Kortisol

Binjurar

Binjuren är en endokrin körtel som består av två huvuddelar: den inre märgen och den yttre barken. Märgen är ansvarig för utsöndringen av katekolaminer, som klassificeras både som neurotransmittorer och hormoner (21).

Å andra sidan är binjurebarken uppdelad i tre koncentriska zoner: *zona glomerulosa*, *zona fasciculata* och *zona reticularis*. *Zona glomerulosa*, det yttersta lagret, producerar mineralkortikoider. *Zona fasciculata* utvecklar glukokortikoider, medan *zona reticularis* är ansvarig för produktionen av androgenprekursorer till könshormonerna, östrogen och androgener (22,23), se figur 4. Huvuddelen av androgenerna produceras i testiklarna hos män och östrogen i äggstockarna hos kvinnor (24).

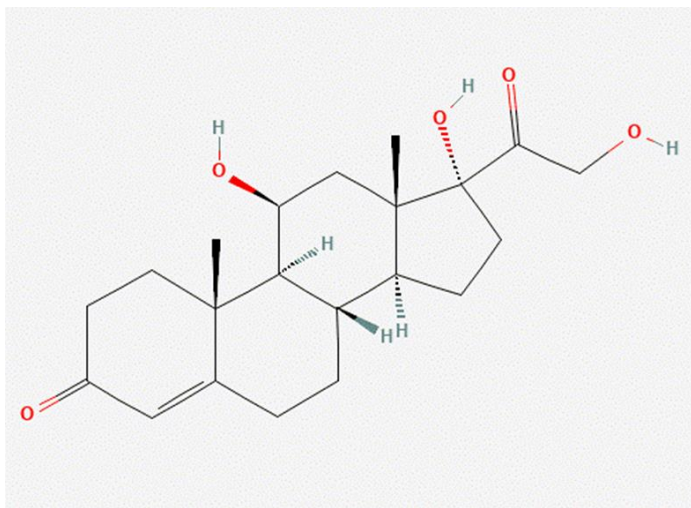


Figur 4. Tvärsnitt av binjurebarken. Källa: (25). Upphovsperson: [Nicolas C. Nicolaidis et al] Licens: [http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/] Ej modifierad från original.

Huvudsakligen är binjurarna involverade i syntesen av binjurersteroider, varav de viktigaste och framstående för reglering av kroppens fysiologiska funktioner är de steroiderna med glukokortikoid- och mineralokortikoidaktivitet (22).

Mineralkortikoider, inklusive aldosteron, reglerar både vatten- och elektrolytbalansen och njurarnas utsöndring av natrium och kalium i distala tubuli, medan glukokortikoider reglerar och påverkar kolhydrat- och proteinmetabolismen. Därigenom bidrar de till att öka glukoskoncentrationer i blodet. Glukokortikoider har även regulatoriska effekter på immunsystemet och minskar bildning av prostaglandiner och leukotriener och bidrar till hämning av inflammation (26).

Hydrokortison, även känt som kortisol, är en glukokortikoid och är det främsta endogena hormonet som produceras och frisätts av binjurarna, se figur 5. Verkningarna av mineralkortikoider och glukokortikoider är inte strikt åtskilda i naturliga steroider, och vissa glukokortikoider kan påverka vatten- och elektrolytbalansen. Hydrokortison och aldosteron visar jämförbar aktivitet på mineralkortikoidreceptorer, trots detta är det värt att notera att i mineralkortikoidkänsliga vävnader, som njurarna, omvandlar hydrokortison till den inaktiva metaboliten kortison genom enzymet 11 β -hydroxysteroiddehydrogenas typ 2, vilket hindrar vävnaden från att svara på hydrokortison (22).

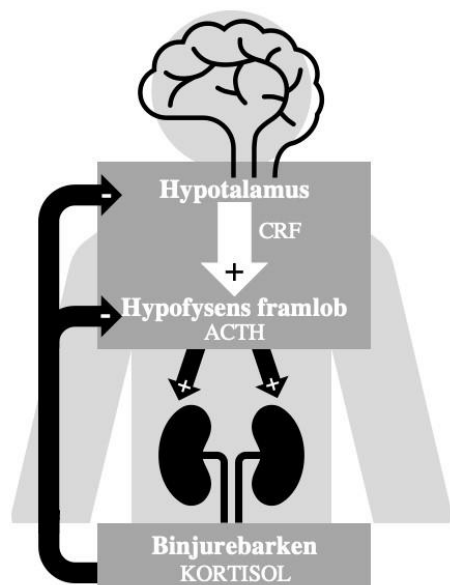


Figur 5. Struktur av kortisol. Källa: (27).

Regleringen av glukokortikoider

Glukokortikoider frisätts och syntetiseras i *zona fasciculata* i binjurebarken, vilket regleras av cirkulerande adrenokortikotropiskt hormon (ACTH) som är under kontroll av hypothalamus, den regionen av hjärnan som reglerar kroppens homeostas. Dessa hormoner spelar en avgörande roll för att upprätthålla kroppens homeostas och för att svara på stress (24).

Denna syntes av glukokortikoider sker pulserande och resulterar i en konstant frisättning i blodet. Hos friska individer manifesterar sig dygnsrytmen i glukokortikoidsekretion som en harmonisk rytm, där nettokoncentrationen är högst tidigt på morgonen och sedan gradvis minskar under dagen för att nå en låg punkt på kvällen eller natten. ACTH-utsöndringen från hypofysen, är också pulserande, och regleras noggrant av kortikotropinfrisättande faktor (CRF) från hypothalamus och till viss del av vasopressin från den bakre hypofysen (22), som även det är ett hormon som ökar vanligtvis vid stress (26).



Figur 6. HPA-axeln. Figuren är skapad av författaren till examensarbetet.

exogena glukokortikoider i blodet utlöser en negativ återkopplingseffekt på frisättningen av CRF och ACTH, se figur 6. Denna respons är en återkoppling och sker via en s.k. lång negativ loop som påverkar hypothalamus och som kan leda till att hämma produktionen av kroppsegna glukokortikoider och kan till

Detta finstämda regelsystem, bestående av hormonerna CRF och ACTH, utövar en reflexmässig hämning av frisättning av glukokortikosteroider. När cirkulerande glukokortikoidkoncentrationer stiger i blodet sker en negativ återkoppling, och frisättningen av både CRF och ACTH hämmas. Psykologiska faktorer, temperaturvariationer, skador och infektioner kan ytterligare påverka frisättningen av vasopressin och CRF. Denna övergripande frisättningsmekanism av CRF utgör den centrala aktiveringsvägen för HPA-axeln (22), se figur 6.

Som respons på upplevda hot i den yttre miljön kan detta leda till frisättning av glukokortikoider, vilka i sin tur påverkar en rad olika vävnader i kroppen. Studier har även undersökt människor som jobbar nattskift eller har oregelbundna sömnrutiner då detta sägs sätta den harmoniska dygnsrytmen av kortisolnivåer ur balans (28).

Negativ återkoppling och långvarig behandling

Syntetiska glukokortikoider kan användas som läkemedel vid behandling av inflammatoriska sjukdomar. Såväl endogena som

och med leda till binjurebarksatrofi vid långvarig läkemedelsbehandling utav exogena glukokortikoider. Återgången till normal binjurefunktion kan ta flera månader efter avslutad medicinering (22).

Mekanism för glukokortikoidverkan

Glukokortikoider är lipofila och tar sig igenom cellmembranet och interagerar med intracellulära receptorer. Dessa är kända som glukokortikoidreceptorer (GR), och tillhör en omfattande kärnreceptorsuperfamiljen av nukleära receptorer. När glukokortikoider utövar sina effekter, binder de till intracellulära receptorer och bildar dimerer. Dessa dimerer förflyttar sig från cytoplasman till cellkärnan och interagerar med DNA, vilket reglerar gentranskription och resulterar i induktion eller hämning av proteinsyntes. De akuta effekterna förmedlas också genom signalsystem i cytosolen. Denna respons är snabb och varierad beroende på receptortyp och vävnadstyp. Trots tidigare antaganden om att deras påverkan främst var kopplad till genuttryck i cellkärnan, visar forskning att glukokortikoider fortfarande kan påverka biologiska processer när receptorn befinner sig utanför cellkärnan. Med olika isoformer av GR, läggs ytterligare komplexitet till bilden, men dessa vävnadsspecifika isoformer öppnar upp möjligheten att utveckla selektiva glukokortikoidläkemedel, vilket skulle minska antalet allvarliga biverkningar och leda till framgångsrikare behandlingar av inflammatoriska sjukdomar (22).

Mätning av kortisol

Kortisol är lipofilt och transporteras runt i kroppen med hjälp av en proteinsbärare. Cirka 80% av kortisolet binder till kortisolbindande globulin (CBG), medan 10% binder till albumin och resterande 10% är fritt och biologiskt aktivt (29).

Vid utvärdering av kortisolnivåer kan både serum och saliv användas som provtagningsmetoder. Serumprovtagning innebär vanligtvis ett blodprov från en ven, vilket ger en direkt avläsning av det totala kortisolet i cirkulationen. Dessa prover har länge varit standardmetoden och är väl standardiserade, men de kräver en invasiv procedur som kan vara obehaglig för patienten (29).

Salivprov är ett alternativ som ger en indikation på det fria, biologiskt aktiva kortisolet och reagerar snabbt och tillförlitligt på förändringar i plasmakortisolkoncentrationen. Metoden är icke-invasiv och innebär vanligtvis att personen droppar saliv i en behållare. Salivprover är enklare att samla in och mindre krävande jämfört med blodprovstagning. Kortisolnivåerna i saliv är oftast mindre än en tiondel av nivåerna i serum. Vid tolkning av testresultat är det viktigt att beakta fluktuationer och eventuella störningar vid provtagningen, såsom kontaminering eller påverkan av externa faktorer som rökning, mat, dryck eller tandborstning (29).

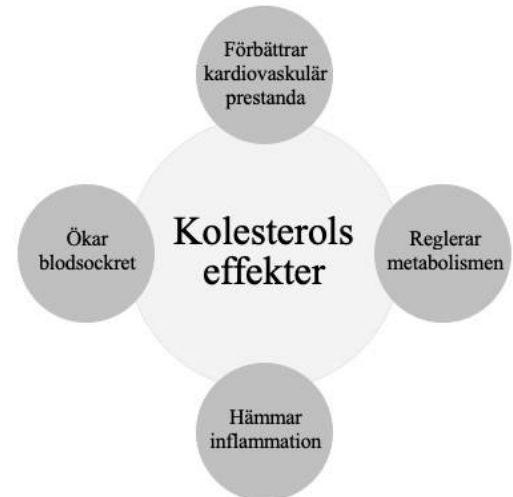
Värt att notera är att skillnader i kortisolnivåer kan också bero på naturliga fluktuationer över tid, såsom högre nivåer på morgonen och lägre på kvällen som nämnts tidigare. Kortisol återspeglar ACTH: s dygnsrytm och pulsatila mönster, med högsta topp på morgonen och minimum mellan midnatt och kl. 03:00. Denna rytm påverkas av flera faktorer såsom sömnbrist/skiftarbete, etnicitet, kön, ålder, BMI och fas i menstruationscykeln (29).

Kortisols effekter

Kroppen reagerar på hotfulla situationer genom att frisätta bland annat stresshormoner. Det kan vara stimuli såsom ljud, smärta, emotionell påfrestning, stressande händelser eller förväntan om sådana episoder som ökar sekretionen av CRF och ACTH och därpå ökar syntesen och frisättning av endogena antiinflammatoriska glukokortikoider i blodet (22,23).

Dessa agerar som motreglerande agenter genom att hämma överdriven aktivering av inflammation och andra kraftfulla försvarsreaktioner. På så sätt förbereder sig kroppen fysiologiskt för att överleva eventuella skadliga situationer. Medicinsk användning av glukokortikoider är värdefull för behandling av svåra allergier och andra känsliga tillstånd och även vid inflammation. Dock innebär detta också risken att hämma kroppens normala immunsystem och försvarsreaktioner, särskilt under stress, vilket understryker glukokortikosteroiders koppling till kroppens respons på utmanande situationer (22).

Under stressiga förhållanden då kortisol frisätts, ändras metabolismen. Det innebär att ämnesomsättningen börjar mobilisera energikällor som glukos, fria fettsyror och aminosyror samt glycerol, till blodet för att möta det ökade energibehovet. Dessa förändringar är adaptiva och bidrar till överlevnad, och när stressen avtar återgår fysiologiska variabler till normala värden (30). Ett exempel på detta är när djur utsätts för livsfarliga hot tvingas de ofta avstå från föda, under dessa episoder anpassas ämnesomsättningen av organiska ämnen för att effektivt tillhandahålla energi till kroppen. Proteinkatabolismen och nedbrytningen av muskler är en potentiell källa till glukos och utgör även en potentiell källa av fria aminosyror för att reparera vävnadsskador som kan uppstå vid skador. Kortisol ökar förmågan för vaskulär glatt muskulatur att kontrahera som svar på noradrenalin som då förbättrar kardiovaskulär prestanda. Emellertid har kortisol vid stress ytterligare funktioner utöver sin roll i reglering av ämnesomsättningen, se figur 7. Kortisols effekt på kroppen vid hotfulla situationer är ännu inte helt klarlagd, men man vet att för låga nivåer av kortisol vid livshotande situationer är dödligt, vanligtvis på grund av cirkulationssvikt (26).



Figur 7. Några av kortisols effekter på kroppen. Figuren är skapad av författaren till examensarbetet.

Stress

Stress är en term som används för att beskriva alla slags påfrestningar, vare sig de är interna eller externa, som får kroppen att reagera biologiskt. Kroppens respons på dessa påfrestningar kallas stressreaktioner. Beroende på typ, tidpunkt och allvarlighetsgrad av den påfrestning som påverkar oss kan stress orsaka en rad olika effekter på kroppen, från små förändringar i balansen (homeostas) till livshotande konsekvenser och till och med död. Många sjukdomar och deras komplikationer kan härledas till stress, och personer som regelbundet utsätts för stressiga situationer, som till exempel de som arbetar eller lever i högtrycksmiljöer, har en ökad risk för att drabbas av olika hälsoproblem. Stress kan både utlösa och förvärra många sjukdomar och andra patologiska tillstånd (31).

Perceived Stress Scale (PSS) är ett välkänt instrument för att bedöma stress. Det utvecklades ursprungligen 1983 och fortsätter att vara ett populärt val för att mäta hur olika situationer påverkar individens upplevda stressnivåer. PSS består av frågor som ber individen att reflektera över sina känslor och tankar under den senaste månaden och ange hur ofta de har känt eller tänkt på ett visst sätt. Beroende på hur många poäng en individ får, kan deras upplevda stressnivåer klassificeras i olika kategorier (32).

Kronisk stress

Förhöjda nivåer av kortisol under långvarig stress, inklusive emotionell stress, kan leda till skadliga effekter på kroppen på olika sätt. Forskning indikerar att ihållande höga nivåer av kortisol uppstår vid kronisk stress och det i sin tur kan påverka immunsystemet och leda till minskad motståndskraft mot infektioner. Dessutom kan det förvärra symtomen på diabetes mellitus, genom att påverka blodsockernivåerna och orsaka skador på vissa neuroner i hjärnan. Kronisk stress kan även påverka fertilitet, reproduktiv hälsa, fördröja puberteten och även hämma tillväxten hos barn och tonåringar. Kortisol påverkar olika vävnader som till exempel fettvävnad, benvävnad och muskelvävnad och efterliknar därför ofta symtomen som är synliga vid Cushings syndrom. Kroppens respons på stress involverar produktionen av kortisol, som är ett kroppseget hormon som främjar utvinning av ämnen från olika vävnader för att få en ökad mängd glukos och andra byggstenar till blodet. Denna mekanism betraktas som gynnsam under specifika stressfyllda situationer när ökad tillförsel av glukos är nödvändig. Dock kan långvarig och överdriven exponering för kortisol som ses vid kronisk stress medföra allvarliga om inte dödliga konsekvenser för organismen (26) såsom hög puls och blodtryck, och kardiovaskulära sjukdomar, ett högt blodsocker, samt även en lägre nivå av sexhormoner (33).

SYFTE

Syftet med detta litteraturarbete var att undersöka om withanolider, de huvudsakliga aktiva ämnena i *Withania somnifera* (Ashwagandha), kan minska kortisolnivåerna hos människor.

MATERIAL OCH METOD

För att säkerställa en rigorös och evidensbaserad ansats till detta litteraturarbete, begränsades informationskällorna uteslutande till vetenskapligt publicerade kliniska studier. Samtliga inkluderade studier identifierades genom en systematisk sökning utförd med hjälp av den medicinska databasen PubMed. PubMed, som är en omfattande medicinsk databas, valdes som informationskälla för att söka och säkerställa ett utfall av högkvalitativa och relevanta kliniska studier.

För att fokusera på en målgrupp som är så representativ som möjligt för den vuxna befolkningen begränsades urvalet av studier specifikt till de som var randomiserade, dubbelblinda och placebokontrollerade kliniska prövningar. Studier inkluderades endast som undersökte effekten av ashwagandha på kortisolnivåer hos vuxna individer oavsett kön. Denna stränga inklusionsstrategi antogs för att minimera bias och öka validiteten av de presenterade resultaten.

De fyra inkluderade studierna valdes ut genom en noggrann sökning i PubMed med användning av sökfiter för "*Clinical Trial*" och "*Randomized Controlled Trial*". Dessa filter valdes för att identifiera studier som uppfyllde de högt ställda kraven för att både vara randomiserade studier och att de var placebokontroll i studierna, vilket anses vara grundläggande för att erhålla trovärdiga resultat inom klinisk forskning.

För ytterligare kvalitetskontroll och säkerhet, granskades de utvalda studierna också för *peer review*-status genom användning av Ulrichsweb. Endast studier som hade genomgått rigorös extern granskning inför publicering och bedömts som vetenskapligt pålitliga genom denna process inkluderades i den slutliga urvalsprocessen.

Denna metodik syftade till att säkerställa att det presenterade litteraturarbetet sammanställer och vilar på vetenskaplig evidens i form av trovärdigt publicerade data, och att de extraherade resultaten som återges i det här arbetet är pålitliga och generaliserbara för att förstå ashwagandhas potentiella påverkan på kortisolnivåer hos vuxna individer.

Fyra relevanta kliniska studier valdes ut efter en sökning på PubMed den 18 januari 2024, där sökorden "Ashwagandha" och "Cortisol" användes. Sökningen genererade initialt fem träffar, och efter en granskning valdes fyra studier ut för inklusion baserat på de följande kriterierna, randomisering av deltagare i studierna, att studierna var dubbelblinda inklusive att effekt av behandling i studierna jämfördes med placebokontroll.

RESULTAT

Nedan sammanställs fyra utvalda studier publicerade mellan 2016 och 2023 som har undersökt ashwagandhas effekt på kortisol. För en översikt av samtliga studiers resultat, se tabell 1.

Studie 1

An investigation into the stress-relieving and pharmacological actions of an ashwagandha (Withania somnifera) extract. A randomized, double-blind, placebo-controlled study (2019) (34).

Syfte

Syftet med studien var att undersöka effekterna av en standardiserad ashwagandha-rotextrakt på stress, ångest och hormonproduktion hos friska vuxna människor som lider av mild stress. Forskarna var också intresserade av att identifiera ytterligare mekanismer för ashwagandhas antistress- och humörförbättrande effekter, särskilt i förhållande till dess inflytande på steroidhormoner.

Studiens upplägg

Studiens upplägg var en 60-dagars, randomiserad, dubbelblind, placebokontrollerad studie som inkluderade 60 friska vuxna (37 män och 23 kvinnor) som led av mild stress. Deltagarna randomiserades till att en gång dagligen, antingen ta placebobehandling eller 240 mg av standardiserad ashwagandha-rotextrakt i form av en kapsel (Shoden, Arjuna Natural Ltd, Aluva, Kerala, India).

Deltagarna rekryterades mellan april 2016 och juli 2016 via två kliniker i Indien. Inklusionskriterierna för deltagarna var att de var friska vuxna med en ålder mellan 18 och 56 år, som led av mild stress och som var villiga att delta i studien samt följa dess procedurer genom att skriva under ett skriftligt informerat samtycke. Kvinnliga deltagare i fertil ålder var också skyldiga att använda en lämplig och effektiv preventivmetod under hela studien och testades negativt på ett graviditetstest eller som tidigare genomgått kirurgisk sterilisation. Exklusionskriterierna inkluderade bland annat graviditet, amning, känd överkänslighet mot ashwagandha, akut trångvinkelglaukom, prostataförstoring, hjärt-kärlsjukdomar, endokrina- eller njursjukdomar, diagnosticerbar psykisk sjukdom, intag av psykotropa läkemedel eller andra örtberedningar, alkoholberoende, eller intag av andra undersökningsläkemedel för en annan klinisk prövning/forskning.

Metod och analys

Kapsel innehöll antingen 240 mg av ashwagandha-rotextrakt eller placebo (rostat rispuder). Den torkade plantan identifierades av en kvalificerad botanist som *Withania somnifera* (L). Extraktionslösningsmedlet som användes var etanol och vatten i proportionen 70:30 och extraktet standardiserades med högpresterande vätskekromatografi för att det skulle innehålla 35% withanolidglykosider. Deltagarna instruerades att ta 1 kapsel (med 84 mg withanolidglykosider) en gång dagligen efter middagen med 250 ml vatten. Kapslarna till placebogruppen var identiska i utseende, form, färg, förpackning och bestod av avlånga gröna kapslar.

Blodserum för att mäta kortisol samlades in på morgonen (ungefär klockan 8) vid den initiala bedömningen, vilket skedde 7 dagar före behandlingsstart, därefter samlades ytterligare blodprover in på morgonen vid besök 4 (dag 30) och besök 6 (dag 60) för att mäta kortisolnivåer. Kortisolnivåer analyserades med hjälp av kompetitiv kemiluminescerande immunanlys (CLIA).

Resultat

Vid studiens avslut hade gruppen som behandlats med ashwagandha ett medelvärde på 10,84 µg/dL (299,18 nmol/L) för kortisol, medan placebogruppen hade ett medelvärde på 14,07 µg/dL (388,33 nmol/L), vilket resulterade i en skillnad på 3,23 µg/dL (89,15 nmol/L) med ett p-värde på mindre än 0,001. Ashwagandha-gruppen visade en signifikant minskning av kortisolnivåerna med 23% jämfört med placebogruppen, vilket framgår av tabell 1.

De övriga resultaten visade en signifikant minskning av HAM-A (Hamilton Anxiety Rating Scale), vilket är en vanligt använd klinisk bedömningsmetod för att mäta svårighetsgraden av ångestsymtom hos en individ. Likaså visade resultaten en nästan signifikant minskning av DASS-21 (Depression, Anxiety and Stress

Scale), som är ett självrapporterat frågeformulär som mäter förekomsten av depression, ångest och stress hos en individ. Dessutom visade resultaten en signifikant minskning av DHEA-S jämfört med placebo. Slutligen observerades en signifikant ökning av testosteron hos män, men inte hos kvinnor.

Studie 2

Body Weight Management in Adults Under Chronic Stress Through Treatment With Ashwagandha Root Extract: A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial (2016) (35).

Syfte

Studiens syfte var att utvärdera effekten av ett rotextrakt från *Withania somnifera* (ashwagandha) på vuxna människor under kronisk stress med avseende på förbättring av allmänt välbefinnande och minskning av fysiologiska markörer för stress som har kopplats till fetma.

Studiens upplägg

Studiens upplägg var en randomiserad, dubbelblind, placebokontrollerad klinisk studie som genomfördes under 8 veckor. Studien inkluderade 52 vuxna (38 män och 14 kvinnor) mellan 18 och 60 år som led av kronisk stress. Deltagarna randomiserades till att antingen ta en placebobehandling eller 300 mg av en standardiserad ashwagandha-rotextrakt i form av en kapsel (KSM 66, Ashwagandha, Ixoreal Biomed, Los Angeles, CA) två gånger dagligen med vatten.

Studien genomfördes på en klinik i Pune, Indien. Inklusionskriterierna var att deltagarna hade symptom på kronisk stress som hade uppmätts med hjälp av enkäten och formuläret för *Perceived Stress Scale* (PSS) och fått minst 20 poäng på denna och att de hade ett kroppsmasseindex (BMI) mellan 25 och 39.

Exklusionskriterierna var bland annat ätstörningar, att de deltagit i ett viktminskningsprogram de senaste 3 månaderna, att de hade genetiska eller endokrina sjukdomar som predisponerar för viktökning, eller neurologiska sjukdomar, eller något annat instabil medicinsk tillstånd, eller att de var allergiska mot ashwagandha-rotextrakt, att de var gravida eller ammade, eller att de tog mediciner som påverkade kroppsvikten, eller att de deltagit i andra kliniska prövningar de senaste 3 månaderna, att de led av alkoholmissbruk eller rökte, eller att de hade en akut instabil lever-, njur-, hjärt-, kärl- eller lungsjukdom.

Metod och analys

Deltagarna i ashwagandha-gruppen fick 300 mg av ett standardiserat rotextrakt, innehållande 5% withanolider (15 mg withanolider). Beredningen gavs i form av en kapsel, vilket intogs två gånger dagligen med vatten under en period av 8 veckor. Placebogruppen fick inaktivt fyllnadsmedel i sina kapslar under samma tidsperiod. Båda preparaten hade kapslar bestående av hård gelatin och var identiska i storlek, form, textur och vikt samt att kapslarna till placebogruppen behandlades i förväg genom att de förvarades tillsammans med ett kuvert som innehöll ashwagandha-rotextrakt under några dagar. Detta gjordes för att lukten från ashwagandha skulle överföras till placebokapslarna.

Insamling av serumprover för kortisol skedde vid studiens start samt vid avslutningen av både 4 och 8 veckors behandling. Det är dock värt att notera att specifika detaljer angående tidpunkten för provtagningen under dygnet och den exakta analysmetoden för kortisolproverna inte nämndes i artikeln av den publicerade studien.

Resultat

Av de 52 deltagarna, ansågs 2 individer (en i varje grupp) vara bristfälliga vad gäller följsamheten av studieprotokollet. Informationen från de återstående 50 deltagarna användes för effektanalys enligt per-protokoll (PP).

Vid slutet av studien hade gruppen som behandlats med ashwagandha ett medelvärde på 13,41 µg/dL (370,12 nmol/L) för kortisol, medan placebogruppen hade ett medelvärde på 15,44 µg/dL (426,14 nmol/L). Detta resulterade i en skillnad på 2,03 µg/dL (56,03 nmol/L) med ett p-värde på 0,0132. Ashwagandha-gruppen visade en signifikant minskning av kortisolnivåerna med 22,2% jämfört med placebogruppen, vilket

framgår av tabell 1. Vid mätningarna som utfördes vid vecka 4 observerades en signifikant minskning med 16,05% av kortisolnivåerna i ashwagandha-gruppen.

Övriga resultat visade en signifikant minskning av PSS jämfört med placebo. Dessutom visade andra effektmått signifikanta förbättringar i den aktiva gruppen jämfört med placebo, inklusive välbefinnande, lycka, matbegär och kroppsvikt.

Studie 3

A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Crossover Study Examining the Hormonal and Vitality Effects of Ashwagandha (Withania somnifera) in Aging, Overweight Males (2019) (36).

Syfte

Studiens syfte var att undersöka effekterna av ett standardiserat extrakt av *Withania somnifera* (ashwagandha) på steroidhormoner och på symtom av trötthet och vitalitet hos friska, överviktiga män i åldrarna 40–70 år.

Studiens upplägg

Studiens upplägg var en 16-veckors, randomiserad, dubbelblind, placebokontrollerad, crossover-studie som inkluderade 57 friska, överviktiga män i åldrarna 40–70 år som behandlades för mild trötthet och nedsatt vitalitet. Deltagarna randomiserades till att antingen ta en placebo eller en standardiserad ashwagandha-extrakt (Shoden beads, Arjuna Natural Ltd, Aluva, Kerala, India) en gång dagligen.

Deltagarna rekryterades mellan december 2017 och februari 2018 i västra Australien. Inklusionskriterierna för deltagarna var att de var överviktiga. Männerna var i åldrarna 40–70 år med mild trötthet och nedsatt vitalitet. Exklusionskriterierna för att delta var psykiska sjukdomar eller medicinska sjukdomar såsom diabetes, autoimmuna sjukdomar, hjärt-kärlsjukdomar, hypertoni, kroniskt trötthetssyndrom eller astma. Deltagarna skulle även vara icke-rökare, vara fria från medicin i minst 3 månader och ha ett kroppsmasseindex (BMI) mellan 25 och 35. Dessutom skulle deltagarna inte ha för avsikt att delta i något viktminskningsprogram eller genomgå betydande livsstilsförändringar under studien. Deltagare som led av någon infektion eller haft en sjukdom den senaste månaden, eller som drack mer än 14 standardportioner alkoholhaltiga drycker per vecka, eller som hade en nuvarande eller tidigare historia av narkotikamissbruk var också uteslutna från studien.

Metod och analys

I studien fick deltagarna antingen en placebobehandling eller kapslar innehållande ashwagandha-extrakt från både rötter och blad som var standardiserad till 35% withanolidglykosider. Kapslarna till placebogruppen innehöll rostat rispulver. Ashwagandha-extraktet använde en patenterad *Bioactive Ingredient Protection System* (BIPS) teknologi som skyddade extraktet. Båda preparaten hade en vikt av 300 mg och tillverkades i en anläggning som var certifierad enligt god tillverkningssed (GMP). Deltagarna fick anvisningar att ta två tabletter dagligen, helst två timmar efter måltid (företrädesvis efter middagen). Den totala dagliga dosen av withanolidglykosider under behandlingsperioden var 21 mg (två tabletter). Tabletterna var identiska i utseende, form, färg och förpackning, och utgjordes av runda, vinröda tabletter.

Deltagarna var instruerade att samla in morgonprov av fastande saliv vid studiens start, vid vecka 8 (avslutningen av fas 1) och vid vecka 16 (avslutningen av fas 2). Tydliga instruktioner gavs till deltagarna för att fylla provröret med saliv (cirka 5 ml) mellan klockan 6 och 8 på morgonen eller inom 30 minuter efter att ha vaknat. Deltagarna instruerades att samla salivprover före intag av mat, drycker eller tandborstning. Proverna analyserades med hjälp av ett ELISA-test för att mäta koncentrationen av kortisol i saliv.

Resultat

Sex deltagare (11%) avslutade sin medverkan i placebo-ashwagandha-gruppen, medan åtta deltagare (14%) gjorde det samma i ashwagandha-placebo-gruppen. De vanligaste anledningarna till att deltagarna avbröt

studien var ett ojämnt intag av tabletter (n = 8, 14%), samt oförmåga att fylla i frågeformulär/samla salivprover (n = 3, 5%), eller på grund av att de påbörjade av ny medicinsk behandling (n = 2, 4%), och på grund av en oväntad utlandsresa (n = 1, 2%).

Totalt ingick 43 deltagare (75%) i analysen av resultaten, och dessa deltagare uppfyllde alla nödvändiga behandlingskrav. Kraven inkluderade att konsumera mer än 80% av tilldelade kapslar, fylla i självrapporteringsformulär vid minst två tidpunkter under de två behandlingsfaserna och samla salivprover under studien.

Vid studiens avslutning var medelvärdet i kortisol för grupperna som hade behandlats med ashwagandha 27,13 nmol/L, medan det för placebogrupperna var 29,42 nmol/L, vilket resulterade i en skillnad på 2,29 nmol/L, med ett p-värdet på 0,319. Ashwagandha-gruppen visade en minskning av kortisolnivåerna med 7,8%, denna minskning var inte signifikant jämfört med placebogruppen, se tabell 1.

Övriga resultat av studien visade signifikant ökning av DHEA-S och testosteron, men inga signifikanta skillnader mellan grupperna hittades avseende östradiol, trötthet, vitalitet eller sexuellt välbefinnande.

Studie 4

A standardized Ashwagandha root extract alleviates stress, anxiety, and improves quality of life in healthy adults by modulating stress hormones. Results from a randomized, double-blind, placebo-controlled study (2023) (37).

Syfte

Studiens syfte var att undersöka effekterna av standardiserat rotextrakt av *Withania somnifera* (ashwagandha) på att lindra stress, ångest och förbättra livskvaliteten hos friska vuxna med milda till måttliga symptom genom att modulera stresshormoner.

Studiens upplägg

Studien var en randomiserad, dubbelblind, placebokontrollerad studie som inkluderade totalt 54 deltagare, varav 27 deltagare randomiserades till att ta *Withania somnifera* rotextrakt (Shagandha, Sami-Sabinsa Group Limited) och 27 deltagare randomiserades till att ta placebo. Både den aktiva gruppen och placebogruppen fick ta en kapsel per dag i 60 dagar. Deltagarna var friska vuxna i åldersgruppen 21–54 år med mild till måttlig stress och ångest.

Under perioden september 2020 till november 2021 genomfördes studien vid Narayana Institute of Cardiac Sciences i Bangalore och Vijaya Super Specialty Hospital i Nellore, båda belägna i Indien. Deltagarna i studien rekryterades från dessa specifika kliniker.

Inklusionskriterierna för studien omfattade vuxna deltagare i åldersgruppen 21 till 54 år med ett PSS-poäng på mindre än 25 och över 14 poäng. Ångestnivån bedömdes med hjälp av mätenkäten *Generalized Anxiety Disorder-7* (GAD-7). Deltagarna hade poäng på mindre än 15, vilket indikerar mild till måttlig stress och ångest. Dessutom skulle deltagarna ha självrapporterat upplevelser av trötthet, sömnlöshet, aptitlöshet och koncentrationsproblem. Exklusionskriterierna för studien innefattade deltagare med en sjukdomshistorik av svåra allergier eller anafylaktiska reaktioner, alkoholmissbruk, överdriven rökning och överkänslighet mot den undersökta produkten. Ytterligare exklusionskriterier inkluderade symptom på neurologiska eller psykiatriska störningar, kroniska gastrointestinala eller genitourinära sjukdomar, allvarlig immunbristsjukdom, sköldkörtelsjukdomar, lungsjukdomar, akuta medicinska eller kirurgiska komplikationer, samt om deltagaren hade onormala serum-biokemiska parametrar. Deltagare som använt ayurvediska behandlingar, herbalistiska kosttillskott, homeopatiska, eller andra kosttillskott (inklusive vitamin E), eller som deltagit i andra kliniska studier under de senaste tre månaderna, samt gravida eller ammande kvinnor uteslöts från studien.

Metod och analys

I studien användes ett rotextrakt av *Withania somnifera* (Ashwagandha) som var standardiserad till att innehålla 2,5% withanolider. Varje kapsel innehöll 500 mg av extraktet inklusive 12,5 mg withanolider och utöver det 5 mg av alkaloiden piperin (BioPerine) för att öka biotillgängligheten av aktiva ämnen. Kapslarna var identiska i utseende för både den aktiva gruppen och för placebogruppen. Placebokapslarna innehöll mikrokristallin cellulosa. Ashwagandharötterna pulveriserades och extraherades med en blandning av etanol och vatten (80:20). Det erhållna extraktet koncentrerades ytterligare till en fjärdedel av dess ursprungliga volym. Denna inledande blandning koncentrerades ytterligare sedan vidare för att få en ökad koncentration av withanolider. En beräknad mängd hjälpämne tillsattes för att uppnå en önskad halt av 2,5% withanolider. För att analysera innehållet av withanolider i ashwagandha-rotextraktet användes högpresterande vätskekromatografi (HPLC) och kromatografibetingelser utfördes enligt USP-metoden. Deltagarna instruerades att ta en kapsel per dag, på kvällen innan sömn, i 60 dagar.

Salivprover för kortisol samlades in vid tre tillfällen under studien: vid det första screeningbesöket, vid början av studien (dag 0) och vid det sista besöket vid dag 60. Salivproven samlades in vid två tidpunkter under dagen, kl. 8.00 på morgonen och kl. 16.00 på eftermiddagen, varefter proverna centrifugerades och den klara vätskan förvarades vid -70°C till dess att proverna analyserades. Proverna analyserades med hjälp av ett ELISA-test för att mäta koncentrationen av kortisol i saliv.

Resultat

Det var 27 deltagare som randomiserades till varje grupp. Två deltagare från varje grupp avbröt studien av personliga skäl, vilket resulterade i att 50 individer (25 i varje grupp) fullföljde studien och vars resultat analyserades. Av dessa deltagare var 39 män och 11 var kvinnor.

Vid studiens avslut visade gruppen som behandlades med ashwagandha ett morgonkortisolmedelvärde på 21,02 nmol/L, medan placebogruppen hade ett medelvärde på 21,46 nmol/L. Detta resulterade i en skillnad på 0,44 nmol/L med ett p-värde på 0,032. Ashwagandha-gruppen uppvisade en signifikant minskning av morgonkortisolnivåerna med 10,9% jämfört med placebogruppen, se tabell 1.

På samma dag hade ashwagandha-gruppen ett eftermiddagskortisolmedelvärde på 2,18 nmol/L, medan placebogruppen hade ett medelvärde på 2,19 nmol/L. Skillnaden var endast 0,01 nmol/L med ett p-värde på 0,31, vilket inte var signifikant. Trots att ashwagandha-gruppen visade en kortisolsänkning med 17,1%, var skillnaden inte statistiskt signifikant jämfört med placebogruppen, se tabell 1.

De övriga resultaten visade att PSS (Perceived Stress Scale), GAD-7 (Generalized Anxiety Disorder-7) och QoL-poängen (Quality of Life) förbättrades signifikant jämfört med placebo. CANTAB (Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery) visade en signifikant förbättring av multitasking, koncentration och beslutstagningstid jämfört med placebo. Dessutom visade behandlingen en signifikant ökning av urinserotonin i jämförelse med placebo.

Tabell 1 Sammanfattande beskrivning och översikt av studiernas resultat.

<i>Studie</i>	<i>Detektionsmetod av kortisol</i>	<i>Tidpunkt för kortisoltest</i>	<i>Behandlingstid samt deltagare</i>	<i>Inklusionskriterier</i>	<i>Dosering & innehåll</i>	<i>Minskning av kortisolnivå (%) samt kortisolkoncentrationer vid studiens slut (ashwagandha-gruppen)</i>	<i>Övriga read-outs</i>
1. <i>Lopresti et al. (2019)</i>	Serum Direkt kompetitiv kemiluminescerande immunanlys	Morgon (ca kl. 8)	60 dagar Män och kvinnor i Indien, ålder 18–56	Mild stress	1 kapsel dagligen efter middag (totalt 240 mg rotextrakt innehållande 84 mg withanolidglykosider per dag)	23% ($p = <0,001$) 299,18 nmol/L	Signifikant minskning av ångestnivåer enligt HAM-A, samt en tendens till minskning av symtom enligt DASS-21. Dessutom visade resultaten en signifikant minskning av DHEA-S jämfört med placebo, tillsammans med en signifikant ökning av testosteron hos män, dock utan motsvarande observation hos kvinnor.
2. <i>Choudhary et al. (2016)</i>	Serum -	-	8 veckor Män och kvinnor i Indien, ålder 18–60	Kronisk stress, överviktiga	2 kapslar dagligen (totalt 600 mg rotextrakt innehållande 30 mg withanolider per dag)	22,2% ($p = 0,0132$) 370,12 nmol/L	Signifikant minskning av stressnivåer enligt PSS. Dessutom signifikanta förbättringar med avseende på välbefinnande, lycka, matbegär samt kroppsvikt i jämförelse med placebo.
3. <i>Lopresti et al. (2019)</i>	Saliv Enzymkopplad immunadsorberande analys	Morgon (kl. 6 – 8 /30 min från vaknande)	8 veckor Män i Australien, ålder 40–70	Överviktiga, mild trötthet och nedsatt vitalitet	2 kapslar om dagen efter måltid (totalt 600 mg rot- och bladextrakt innehållande 21 mg withanolidglykosider per dag)	7,8% ($p = 0,319$) Ej signifikant 27,13 nmol/L	Signifikant ökning av DHEA-S och testosteron, men ingen signifikant skillnad mellan grupper i avseende på östradiol, trötthet, vitalitet eller sexuellt välbefinnande.
4. <i>Majeed et al. (2023)</i>	Saliv Enzymkopplad immunadsorberande analys	Morgon (kl. 8)	60 dagar Män och kvinnor i Indien, ålder 21–54	Mild till måttlig stress och ångest	1 kapsel dagligen innan sömn på kvällen (totalt 500 g rotextrakt innehållande 12,5 mg withanolider + 5 mg piperin per dag)	Morgon 10,9% ($p = 0,032$) 21,02 nmol/L	Signifikant förbättring av PSS, GAD-7 och QOL-poängen i jämförelse med placebo. Likaså en signifikant förbättring av CANTAB i avseende på förbättring utav <i>multitasking</i> , koncentration och beslutstagning i jämförelse med placebo. Signifikant ökning av urinserotonin i jämförelse med placebo.
		Eftermiddag (kl. 16)				Eftermiddag 17,1% ($p = 0,31$) Ej signifikant 2,18 nmol/L	

DISKUSSION

Studie 1 och studie 3, använde ashwagandha-extrakt från samma tillverkare och leverantör (Arjuna Natural Ltd), som även var deras sponsor. Båda studierna hade liknande metoder när det gällde extraktionsmetoder av växtmaterialet och båda använde HPLC för att standardisera innehållsnivå av withanolidglykosider i det testade extraktet. Trots dessa liknande extraktionsmetoder, visade studie 1 en signifikant minskning av kortisolnivåerna med 23%, med ett dagligt intag av 84 mg withanolidglykosider, medan studie 3 visade en icke-signifikant minskning på 7,8% med ett dagligt intag av 21 mg withanolidglykosider. Detta indikerar att den högre dosen av withanolider är mest gynnsam, dvs det finns ett dos-effekts samband.

Skillnaden kan även bero på skillnader i studiepopulationer då studie 3 skiljer sig avsevärt från de andra studierna när det gäller studiepopulationens profil och fokus på stress. Medan studie 1 och studie 4 inkluderade deltagare som upplevde mild till måttlig stress och ångest, och studie 2 inkluderade individer med kronisk stress, var populationen i studie 3 överviktiga män mellan 40 och 70 års ålder. Deltagarna i studie 3 rapporterade främst att de besvärades av mild trötthet och nedsatt vitalitet. En möjlig förklaring till den bristande signifikanta kortisolminskningen i studie 3 kan vara att deltagarna inte hade höga stressnivåer av kortisol från början. Eftersom kortisol är intimt kopplat till stressresponsen kan det vara svårare att observera betydande förändringar i kortisolnivåerna hos individer med låg stressbelastning. Därför kan den mindre framträdande effekten av ashwagandha på kortisolnivåerna i studie 3 jämfört med de andra studierna förklaras av den relativt låga stressnivån bland deltagarna.

Andra potentiella felkällor i studie 3 inkluderar rekryteringen av populationen via sociala medier, vilket kan introducera bias eftersom de som anmälde sig kan haft motivation att förändra sin vardag och psykiska hälsa. Detta kan underminera pålitligheten i resultaten. Deltagarna uppmuntrades att inte göra livsändringar under studiens gång, vilket är svårt att övervaka och är en faktor som bör följas upp i framtida studier. Dessutom hade 20% av deltagarna i studie 3 skiftarbete ofta på annan ort med oregelbundna arbetstider och/eller pendling till andra städer för arbete, vilket kan leda till dåliga sömnvanor och stress, faktorer som tidigare forskning har visat påverkar kortisolnivåerna (28). Framtida studier bör därför undvika att inkludera sådana deltagare i populationen.

Placeboeffekten kan också spela roll i den icke-signifikanta skillnaden mellan placebogruppen och ashwagandha-gruppen. En större sänkning av kortisolvärdet observerades i placebogruppen i studie 3 än vad som tidigare setts i andra studier, vilket tyder på att det kan ha funnits högre förväntningar hos den australiska populationen jämfört med tidigare studiepopulationer som vanligtvis varit indier. Detta förstärker behovet av att framtida studier bör inkludera deltagare från olika länder. Eftersom studie 3 var en crossover-studie utan uttvättningsperiod, kunde markörerna undersökas under den andra perioden för att se om effekten bibehålls efter att den aktiva behandlingen med ashwagandha avslutades och placeboperioden tog över. Studien mätte bland annat kortisol, DHEA-S och testosteron. DHEA-S är ett steroidhormon som produceras i binjurebarken och fungerar som en föregångare till andra könshormoner, inklusive testosteron och östrogen (38). Resultaten visade att ashwagandhas effekter på dessa markörer inte bibehålls efter behandlingsavslut. Detta understryker behovet av större liknande studier, eftersom studiepopulationen i denna mätning var liten ($n = 19$) på grund av att den delades i hälften. I stället för crossover-studier kan framtida forskning överväga att mäta markörerna en period efter avslutad behandling för att bedöma hållbarheten av ashwagandhas effekter.

Studie 2, som använde ett annat standardiserat ashwagandha-extrakt (KSM-66 Ashwagandha), visade också en betydande minskning av kortisolnivåerna efter 8 veckors behandling med ett dagligt intag av 30 mg withanolider. Tidpunkten för provtagning av kortisol på morgonen specificerades inte och innebär en möjlig felkälla. Trots att denna studie inte redovisade extraktionsmetoden, visade den en jämförbar effekt på kortisolminskning liknande den som erhöles i studie 1. Detta tyder på att olika standardiserade extrakt av ashwagandha kan ge liknande resultat, även om metoderna skiljer sig åt.

Där extraktionslösningsmedlet specificeras i studier användes vanligtvis en blandning av etanol och vatten, där etanolen utgör en större del. Detta val görs med hänsyn till att etanol är mindre polärt än vatten, vilket underlättar extraktionen av withanolider. Dessa föreningar består av ett icke-polärt steroidskelett och löser sig därför bättre i etanol. Vattendelen är också av betydelse för extraktionen av withanolidglykosider, vars sockermolekyler bidrar till att öka lösligheten i vatten. Metoden följer principen "lika löser lika", vilket möjliggör en effektiv extraktion av både withanolider och withanolidglykosider.

Studie 4, som använde ett annat ashwagandha-extrakt (Shagandha) behandlades deltagarna med en daglig dos på 12,5 mg withanolider, resultaten visade en signifikant minskning av kortisolnivåerna efter 60 dagars behandling. Trots att innehållet av withanolider var lägre i detta extrakt jämfört med studie 1 och 2, visade det ändå en signifikant effekt på kortisolminskning, även om inte i samma omfattning som i studie 1 och 2, där dagliga doser på 84 mg respektive 30 mg withanolider användes. Även om det fanns en påtaglig skillnad i morgonkortisolnivåer mellan placebogruppen och den aktiva gruppen i slutet av studie 4, fanns det ingen signifikant skillnad mellan grupperna när det gäller eftermiddagskortisol som i skillnad från resterande studier också mättes. Detta kan potentiellt förklaras av den biologiska variationen över dagen, individuell variation i behandlingssvar och påverkan av andra faktorer såsom kost och sönmönster på kortisolnivåer. *Bioperine* är ett extrakt av svartpeppar med 95% piperin, vilket tros öka absorptionen och tillgängligheten av näringsämnen genom att stimulera aktiviteten i tarmepitelceller. Forskning tyder även på att *Bioperine* förbättrar biotillgängligheten av vitaminer, mineraler och andra näringsämnen när de intas tillsammans (39). I studie 4 användes *Bioperine* för att öka absorptionen av ashwagandha-extraktet, vilket också kan ha påverkat resultatet positivt.

Dessa faktorer, i kombination med det betonade behovet av ytterligare forskning för en djupare förståelse av ashwagandhas farmakokinetik och dess effekt på kortisolnivåer över längre tidsperioder samt mellan olika befolkningsgrupper med skiftande etniciteter och livsstilar, understryker att även lägre koncentrationer av withanolider kan vara effektiva för att reducera kortisolnivåerna.

Resultaten från studierna visar att den största sänkningen av kortisol observerades i studie 1, där deltagarna intog 84 mg glykosidwithanolider dagligen. Denna effekt var följt av studie 2, där 30 mg withanolider dagligen användes, och därefter studie 4 med en dos på 12,5 mg withanolider per dag. Minst effektivt var studie 3, där deltagarna konsumerade 21 mg withanolidglykosider per dag. Denna observation tyder på att det finns en dos-effektsamband. Resultaten från studie 1 och 2, som hade högst andel withanolider/withanolidglykosider, visade en betydande minskning av kortisolnivåerna. Å andra sidan visade studie 3 och 4, med lägre andel aktiva ämnen, en märkbart mindre minskning. Vidare forskning behövs för att noggrant utvärdera denna effekt och för att möjliggöra justeringar av doseringen för att optimera effektiviteten.

Verkningsmekanismen för adaptogeners effekt på stress antas ligga i dess påverkan på HPA-axeln via en minskad aktivitet av binjurebarken (40) vilket är en vanlig hypotes för adaptogener i allmänhet (3). Det föreslås att detta kan förbättra kroppens motståndskraft och återhämtning av stress. En intressant observation är att strukturen hos withanolider, de aktiva beståndsdelarna i ashwagandha, liknar kortisolstrukturen och andra binjurersteroider. Detta kan innebära att de verkar som kortisolanaloger genom att efterlikna deras hämmande mekanism på HPA-axeln, men ytterligare forskning krävs för att fullt ut förstå hur denna mekanism fungerar och om det finns något samband mellan strukturen på molekylnivå och dess biologiska effekter.

I Studie 1 och 2 mättes deltagarnas kortisolnivåer via serumprovtagning. Det är viktigt att notera att stress inför ett blodprov kan betydligt påverka dessa mätningar och ge felaktigt höga resultat. När en individ upplever stress, rädsla eller smärta i samband med blodprov, kan detta snabbt öka nivån av kortisol i blodet och därigenom ge en missvisande bild av kortisolnivåerna (33). Intressant nog visade just dessa två studier den största minskningen av kortisol, vilket sätter i perspektiv den potentiella inverkan av stress på mätresultaten. De övriga studierna tillämpade salivtester, vilka utgör ett mindre invasivt alternativ till blodprovtagning. Genom att minska det invasiva momentet kan denna metod anses vara mer lämplig för att undersöka dagliga variationer i kortisolnivåer och kan även praktiseras hemifrån för att helt undvika stressrelaterade påverkningar som kan påverka resultaten (33). Även om ansträngningar görs för att

minimera det, är det ofta utmanande att helt undvika kontaminering av kortisol i saliv, vilket i sin tur kan påverka validiteten av analysen vid kortisolmätningar i saliv.

Sammanfattningsvis visar studiernas resultat på vikten av att beakta studiepopulationens nivåer av stress och deras specifika symtomprofil vid tolkningen av resultaten från studier som utvärderar ashwagandhas effekter på kortisolnivåer. Vidare forskning som fokuserar på olika populationer och deras unika stressprofiler kan fördjupa förståelsen för ashwagandhas potentiella inverkan på kortisol och stressrespons hos olika individer. Eftersom studiepopulationerna i de aktuella studierna var relativt små, mellan 50 och 60 personer, och studierna hade en maximal längd på 60 dagar, krävs det längre studier med större populationer för att avgöra om ashwagandha kan anses vara ett säkert och effektivt medel som eventuellt kan registreras som ett traditionellt växtbaserat läkemedel inom EU.

TACK

Tack till Ulyana för alla hjälpsamma idéer och det intresse du har visat för mitt examensarbete. Ditt engagemang och stöd har varit ovärderligt och har verkligen bidragit till att förbättra kvaliteten på mitt arbete.

REFERENSER

1. Mikulska P, Malinowska M, Ignacyk M, Szustowski P, Nowak J, Pesta K, et al. Ashwagandha (*Withania somnifera*)—Current Research on the Health-Promoting Activities: A Narrative Review. *Pharmaceutics*. 2023 Apr [cited 2023 Dec 21];15(4):1057.
2. Engels G, Brinckmann J. HerbalGram. [cited 2024 Feb 15]. Ashwagandha. Available from: <https://www.herbalgram.org/resources/herbalgram/issues/99/table-of-contents/hg99-herbprofile-ashwagandha/>
3. Hunnes D. UCLA Health. [cited 2024 Feb 15]. What are adaptogens and the possible benefits of taking them? | UCLA Fielding. Available from: <https://ph.ucla.edu/news-events/news/what-are-adaptogens-and-possible-benefits-taking-them>
4. Ashwagandha | Memorial Sloan Kettering Cancer Center. 2023 [cited 2024 Feb 15]. Available from: <https://www.mskcc.org/cancer-care/integrative-medicine/herbs/ashwagandha>
5. Wankhede S, Langade D, Joshi K, Sinha SR, Bhattacharyya S. Examining the effect of *Withania somnifera* supplementation on muscle strength and recovery: a randomized controlled trial. *J Int Soc Sports Nutr*. 2015 Nov 25 [cited 2024 Mar 1];12:43.
6. National Institutes of Health (NIH). 2023 [cited 2024 Feb 15]. Office of Dietary Supplements - Ashwagandha: Is it helpful for stress, anxiety, or sleep? Available from: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Ashwagandha-HealthProfessional/>
7. Wadhwa R, Konar A, Kaul SC. Nootropic potential of Ashwagandha leaves: Beyond traditional root extracts. *Neurochem Int*. 2016 May 1 [cited 2024 Feb 15];95:109–18.
8. NCCIH. 2023 [cited 2024 Feb 15]. Ashwagandha. Available from: <https://www.nccih.nih.gov/health/ashwagandha>
9. Abdelwahed MT, Hegazy MA, Mohamed EH. Major biochemical constituents of *Withania somnifera* (ashwagandha) extract: A review of chemical analysis. *Rev Anal Chem*. 2023 Jan 1 [cited 2024 Feb 15];42(1).
10. Mirjalili MH, Moyano E, Bonfill M, Cusido RM, Palazón J. Steroidal Lactones from *Withania somnifera*, an Ancient Plant for Novel Medicine. *Molecules*. 2009 Jul [cited 2024 Feb 15];14(7):2373–93.
11. Ha JW, Yu JS, Lee BS, Kang DM, Ahn MJ, Kim JK, et al. Structural Characterization of Withanolide Glycosides from the Roots of *Withania somnifera* and Their Potential Biological Activities. *Plants*. 2022 Mar 13 [cited 2024 Feb 15];11(6):767.
12. Girme A, Saste G, Pawar S, Balasubramaniam AK, Musande K, Darji B, et al. Investigating 11 Withanosides and Withanolides by UHPLC–PDA and Mass Fragmentation Studies from Ashwagandha (*Withania somnifera*). *ACS Omega*. 2020 Nov 3 [cited 2024 Feb 15];5(43):27933–43.
13. Namdeo AG, Ingawale DK. Ashwagandha: Advances in plant biotechnological approaches for propagation and production of bioactive compounds. *J Ethnopharmacol*. 2021 May 10 [cited 2024 Feb 15];271:113709.
14. Läkemedelsverket. 2019 [cited 2024 Feb 15]. EU-gemensamma växtmonografier | Läkemedelsverket. Available from: <https://www.lakemedelsverket.se/sv/tillstand-godkannande-och-kontroll/forsaljningstillstand/vaxtbaserade-lakemedel-och-naturlakemedel/eu-gemensamma-vaxtmonografier>

15. European Medicines Agency. [cited 2024 Feb 15]. European Union monographs and list entries | European Medicines Agency. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory-overview/herbal-medicinal-products/european-union-monographs-and-list-entries>
16. European Medicines Agency. [cited 2024 Feb 15]. Herbal medicinal products | European Medicines Agency. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory-overview/herbal-medicinal-products>
17. Public statement on *Withania somnifera* (L.) Dunal, radix. 2013 Jul 9; Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/public-statement/final-public-statement-withania-somnifera-l-dunal-radix-first-version_en.pdf
18. Livsmedelsverket. 2023 [cited 2024 Feb 15]. Växtbaserade kosttillskott. Available from: <https://www.livsmedelsverket.se/livsmedel-och-innehall/kosttillskott/vaxtbaserade-kosttillskott>
19. Edelstam PC Bo. Läkenedelsboken. 2024 [cited 2024 Feb 15]. Växtbaserade läkemedel och naturläkemedel | Läkenedelsboken. Available from: https://lakemedelsboken.se/kapitel/lakemedelsanvandning/vaxtbaserade_lakemedel_och_naturlakemedel.html
20. Livsmedelsverket. 2023 [cited 2024 Feb 15]. Kosttillskott – att tänka på för företag. Available from: <https://www.livsmedelsverket.se/foretagande-regler-kontroll/regler-for-livsmedelsforetag/kosttillskott-foretag>
21. Nagatsu T. The catecholamine system in health and disease —Relation to tyrosine 3-monooxygenase and other catecholamine-synthesizing enzymes—. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci. 2006 [cited 2024 Feb 29];82(10):388–415.
22. Ritter JM, Flower R, Henderson G, Kong Loke Y, Macewan D, Robinson E, et al. Rang & Dale´s - Pharmacology. 10th ed. Elsevier; 2024. 458–464 p.
23. Roche VF, Zito SW, Lemke TL, Williams DA. Foye´s Principles of Medicinal Chemistry. 8th ed. Wolters Kluwer; 2020. 825–832 p.
24. 1177. 2020 [cited 2024 Feb 29]. Så fungerar hormonsystemet. Available from: <https://www.1177.se/liv--halsa/sa-fungerar-kroppen/hormonsystemet/>
25. Nicolaides NC, Willenberg HS, Bornstein SR, Chrousos GP. Adrenal Cortex: Embryonic Development, Anatomy, Histology and Physiology. In: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, Boyce A, Chrousos G, Corpas E, et al., editors. Endotext. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000 [cited 2024 Mar 29].
26. Widermaier EP, Raff H, Strang KT. Vander´s - Human Physiology, The Mechanisms of Body Functions. 16th ed. McGrae Hill LLC; 2023. 344–345 p.
27. PubChem. [cited 2024 Feb 19]. Hydrocortisone | C₂₁H₃₀O₅ | CID 5754 - PubChem. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Hydrocortisone#section=2D-Structure>
28. Li J, Bidlingmaier M, Petru R, Pedrosa Gil F, Loerbroks A, Angerer P. Impact of shift work on the diurnal cortisol rhythm: a one-year longitudinal study in junior physicians. J Occup Med Toxicol Lond Engl. 2018;13:23.
29. El-Farhan N, Rees DA, Evans C. Measuring cortisol in serum, urine and saliva – are our assays good enough? Ann Clin Biochem. 2017 May 1 [cited 2024 Apr 6];54(3):308–22.

30. Kuti D, Winkler Z, Horváth K, Juhász B, Szilvásy-Szabó A, Fekete C, et al. The metabolic stress response: Adaptation to acute-, repeated- and chronic challenges in mice. *iScience*. 2022 Aug 19 [cited 2024 Feb 29];25(8):104693.
31. Yaribeygi H, Panahi Y, Sahraei H, Johnston TP, Sahebkar A. The impact of stress on body function: A review. *EXCLI J*. 2017 Jul 21 [cited 2024 Apr 6];16:1057–72.
32. Institutet för stressmedicin. 2017 [cited 2024 Apr 6]. Skattningsskalor. Available from: <https://www.vgregion.se/ov/ism/publikationer/skattningsskalor/>
33. Iqbal T, Elahi A, Wijns W, Shahzad A. Cortisol detection methods for stress monitoring in connected health. *Health Sci Rev*. 2023 Mar 1 [cited 2024 Feb 23];6:100079.
34. Lopresti AL, Smith SJ, Malvi H, Kodgule R. An investigation into the stress-relieving and pharmacological actions of an ashwagandha (*Withania somnifera*) extract: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Medicine (Baltimore)*. 2019 Sep;98(37):e17186.
35. Choudhary D, Bhattacharyya S, Joshi K. Body Weight Management in Adults Under Chronic Stress Through Treatment With Ashwagandha Root Extract: A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial. *J Evid-Based Complement Altern Med*. 2017 Jan;22(1):96–106.
36. Lopresti AL, Drummond PD, Smith SJ. A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Crossover Study Examining the Hormonal and Vitality Effects of Ashwagandha (*Withania somnifera*) in Aging, Overweight Males. *Am J Mens Health*. 2019;13(2):1557988319835985.
37. Majeed M, Nagabhushanam K, Mundkur L. A standardized Ashwagandha root extract alleviates stress, anxiety, and improves quality of life in healthy adults by modulating stress hormones: Results from a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Medicine (Baltimore)*. 2023 Oct 13;102(41):e35521.
38. Vad är DHEA-S? | Testmottagningen. [cited 2024 Feb 21]. Available from: <https://www.testmottagningen.se/markorer/hormoner/dheas/>
39. Fernández-Lázaro D, Mielgo-Ayuso J, Córdova Martínez A, Seco-Calvo J. Iron and Physical Activity: Bioavailability Enhancers, Properties of Black Pepper (Bioperine®) and Potential Applications. *Nutrients*. 2020 Jun 24 [cited 2024 Mar 4];12(6):1886.
40. Della Porta M, Maier JA, Cazzola R. Effects of *Withania somnifera* on Cortisol Levels in Stressed Human Subjects: A Systematic Review. *Nutrients*. 2023 Dec 5 [cited 2024 Feb 21];15(24):5015.