

University of Mosul

College of Dentistry



**The Effects of Ashwagandha Roots Extract on
Some Developmental, Behavioral Parameters
and Submandibular Salivary Gland's Histology
in Rat pups With Induced Hypothyroidism**

**A Thesis Submitted by
Zahraa Qusay Alhalawachee**

**To
The Council of Dentistry College / Mosul University
as a Partial Fulfillment of the Requirements
For the Degree of Master of Science
in
Dental Pharmacology**

Supervised by

Professor

Dr. Ghada A. Taqa

Assistant Professor

Dr. Luma I. Al-Allaf

ABSTRACT

Background: Hypothyroidism (insufficient thyroid hormone secretion and release by thyroid gland) is one of the most frequent chronic disorders worldwide. Thyroid hormones play crucial roles in the development and functional maintenance of the central nervous system and in keeping the normality of salivary gland (function and histology) as it is important for homeostasis of oral health.

Objective: The study aims to investigate the ameliorating effect of Ashwagandha Roots extract on some anatomical parameters (including body weight, tail's length and eye opening), some behavioral parameters, some sonographic parameters (in brain and submandibular salivary glands), and on submandibular salivary gland histology in male rats after early postnatal hypothyroidism induced by propylthiouracil. In addition to compare this effect of Ashwagandha Roots extract on these parameters versus thyroxine hormone.

Materials and Methods: Ten healthy pregnant albino rats were procured. Each pregnant rat was housed separately in clean rodent plastic cages until the newborn rats were noticed. At postnatal day 3 (PND3), forty male rats were randomly categorized into 2 main groups, group A as a control group (n=10), pups received distilled water for 21 days orally then continuous administration for further 21 days, and group B as hypothyroid group (n= 30), which was given (1mg/kg) Propylthiouracil (PTU) orally, for 42 days. At PND24, group B divided into 3 subgroups: group B1, the hypothyroid group that remains without treatment, they received only distilled water for 21 days to encounter the same conditions

as other groups.; group B2 that received Levothyroxine solution orally (4µg/100g/day) for 21 days; and group B3 hypothyroid group that received an aqueous extract of Ashwagandha Roots extract orally by gastric gavage (200 mg/kg) also for 21 days. Developmental parameters were monitored (body weight and tail's length measured every week, also, eye opening day, which notice from day 13-1^o). Behavioral tests, such as nest seeking done at PND9, an open field test (PND 2^o and PND45) and novel object rejection test was done at (PND2^o and PND45). Hormonal assay for thyroid hormone at PND24 and PND45. Then, the submandibular gland and the brain undergo an imaging by ultrasound examination followed by submandibular salivary gland specimens were processed for histological evaluation using hematoxylin and eosin stains and under at the end of the experiment for all groups.

Results: The present study showed that propylthiouracil (PTU) cause significant decrease in total serum T4 hormone in the induced hypothyroid group in comparison to the control group. Hypothyroidism exhibited a significantly decrease in body weight and tail length growth of hypothyroid pups when compared with control, with a significant delay in the eye-opening day.

According to behavioral tests, at PND 9 nest seeking test showed that the time of hypothyroid pups to approach maternal bedding was significantly higher than time of control group. Open field test At PND2^o showed that pups of hypothyroid group were traveled significantly more total distance (number of squares crossed) compared to those traveled by pups of control. These results demonstrate that the locomotors activity and anxiety levels of hypothyroid group were significantly higher than control group. While at PND45 there were significant improving in the locomotion activity, anxiety like behavior and rearing behavior of pups treated with

levothyroxine and Ashwagandha Roots extract in comparison with hypothyroid pups that remains without treatment.

The data of novel object recognition test at PND2³ revealed that hypothyroid pups with low preference Index in compared with control pups. The test repeated at PND45 and the data showed an improving effect of treatment on cognitive function through the Preference Index. In fact, there was an ameliorating effect on retention ability with the hypothyroid pups that treated with Ashwagandha Roots extract, while a significant improvement in pups' ability in pups, who treated with levothyroxine.

Imaging by an ultrasound examination of submandibular salivary gland and brain showed significant differences between rats of control and of hypothyroid group with significant improving in the pups treated with levothyroxine.

Histological results of salivary glands of this study showed significant differences in sections of pups of the different groups.

Conclusion: Administration of Propylthiouracil for 21 days induces hypothyroidism manifested by several alteration in rat pups. These alterations include decrease in the body weight, impermeant in the growth of tail and delay in eye opening's day, alteration in behavioral outcomes, change in submandibular salivary gland and brain imaging and submandibular histology. These alterations were ameliorated by administration with Ashwagandha Roots extract. Ashwagandha Roots extract is a new potent thyroid gland protection agent.



جامعة الموصل
كلية طب الأسنان

تأثيرات مستخلص جذور الاشواغندا على بعض الانماط
التطورية و السلوكية وأنسجة الغدد اللعابية تحت الفك السفلية
في جراء الجرذان بعد استحداث قصور الغدة الدرقية

رسالة تقدمت بها

زهراء قصي الحلوجي

إلى

مجلس كلية طب الأسنان/ جامعة الموصل
وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير

في

أدوية الفم والاسنان

بإشراف

الأستاذ المساعد

د. لمى إبراهيم العلاف

الأستاذ

د. غادة عبد الرحمن طاقة

مقارنة بالجراء في مجموعة قصور الغدة الدرقية من خلال زيادة نظام الدفاع المضاد للأكسدة في الدماغ، مع الأخذ في الاعتبار أن بعض التغييرات بسبب قصور الغدة الدرقية قد تكون دائمة. أظهرت النتائج التقييم النسيجي للغدد اللعابية في هذه الدراسة اختلافات معنوية في أقسام الجراء من المجموعات المختلفة.

الخلاصة: إن إعطاء بروبيل ثيوراسيل لمدة ٢١ يومًا يؤدي إلى قصور الغدة الدرقية الذي يتجلى في العديد من التغييرات في صغار الجرذان. وتشمل هذه التأثيرات انخفاض وزن الجسم، وقصور في نمو الذيل والتأخير في يوم فتح العين، وكذلك تغييرات سلوكية، وتغييرات في نتائج تصوير الدماغ والغدة اللعابية تحت الفك السفلي وكذلك تغييرات نسيجية في الغدة اللعابية تحت الفك السفلي. تم تحسين هذه التأثيرات عن طريق استخدام مستخلص جذور الأشواغاندا. حيث يمكن استخدامه كدواء جديد يقدم تحسينات فعلية للمصابين بقصور الغدة الدرقية في جوانب مختلفة.

ويوم ٤٥ بعد الولادة ثم تم اجراء فحص بالموجات فوق الصوتية للدماغ وللغدة اللعابية تحت الفك السفلي بعد ذلك تم القتل الرحيم للجرذان بوساطة الأثير واخذ الغدة اللعابية تحت الفك السفلي ومعالجتها لغرض التقييم النسيجي.

النتائج: أظهرت الدراسة الحالية أن عقار البروبييل ثايويوراسيل يسبب انخفاضاً معنوياً ملحوظ في إجمالي هرمون T4 في الدم مقارنة بالمجموعة الضابطة. قد يؤدي هذا النقص في هرمونات الغدة الدرقية خلال فترة النمو إلى ضعف لا رجعة فيه، وشذوذ في البنية الخلوية والشكلية، وسوء النمو، والتخلف البدني والعقلي الدائم. حيث أظهر قصور الغدة الدرقية انخفاضاً ملحوظاً في وزن الجسم ونمو طول الذيل عند الجراء المصابة بقصور الغدة الدرقية عند مقارنتها بمجموعة الضابطة، مع تأخير ملحوظ عن اليوم المتوقع لفتح العين.

وفقاً للاختبارات السلوكية، أظهر اختبار البحث عن العش في يوم ٩ بعد الولادة أن وقت الجراء المصابة بقصور الغدة الدرقية للاقتراب من عش الأمهات كان أعلى بكثير من وقت المجموعة الضابطة. أظهر اختبار المجال المفتوح في يوم ٢٣ بعد الولادة أن صغار مجموعة قصور الغدة الدرقية قد قطعت مسافة إجمالية أكبر بكثير (عدد المربعات المتقاطعة) مقارنة بتلك التي قطعها صغار المجموعة الضابطة. تظهر هذه النتائج أن هناك فرط في نشاط وكذلك زيادة مستويات القلق لدى مجموعة الغدة الدرقية حيث كانت أعلى بكثير من المجموعة الضابطة. بينما في يوم ٤٥ بعد الولادة كان هناك تحسن ملحوظ في نشاط الحركة، وكذلك معدلات القلق بالنسبة للجراء المعالجة بمحلول الليفوثيرونوكسين وكذلك تلك المعالجة بمستخلص جذور الأشواغاندا مقارنة مع جراء الجرذان المصابة بقصور الغدة الدرقية والتي تركت دون علاج.

كذلك كشفت بيانات اختبار التعرف على الجسم الجديد في يوم ٢٣ بعد الولادة، أن الجراء المصابة بقصور الغدة الدرقية ان هناك انخفاض ملحوظ في مؤشر التفضيل للجسم الجديد مقارنةً بالجراء في المجموعة الضابطة. تم تكرار الاختبار في يوم ٤٥ بعد الولادة وأظهرت البيانات تحسن ملحوظ في الوظيفة المعرفية للجراء التي تلقت محلول الليفوثيرونوكسين خلال مؤشر التفضيل للجسم الجديد. مع وجود تأثير مخفف على الجراء التي تعاني من قصور الغدة الدرقية والتي عولجت بمستخلص جذور الأشواغاندا.

أظهر الفحص بالموجات فوق الصوتية للغدة اللعابية تحت الفك السفلي والدماغ اختلافات معنوية بين الجرذان الضابطة ومجموعة قصور الغدة الدرقية مع تحسن كبير في الجراء الذين عولجوا بالليفوثيرونوكسين. بالنسبة للجراء التي عولجت بمستخلص جذور الأشواغاندا، أظهرت النتائج تأثيراً مخففاً

المقدمة: يعتبر قصور الغدة الدرقية (نقص إفراز هرمون الغدة الدرقية وإفرازه من الغدة الدرقية) أحد أكثر الاضطرابات المزمنة شيوعاً في جميع أنحاء العالم. تلعب هرمونات الغدة الدرقية أدواراً حاسمة في تطوير الجهاز العصبي المركزي والحفاظ عليه وظيفياً وفي الحفاظ على الحالة الطبيعية للغدة اللمعابية (وظيفياً وكذلك في الحفاظ على الأنسجة) كون هذه الغدة مهمة لاستتباب صحة الفم بشكل عام.

الهدف: تهدف الدراسة إلى معرفة التأثير المحسن لمستخلص جذور الأشواغاندا على صغار الفئران الذكور، في بعض المعايير التشريحية (بما في ذلك وزن الجسم، وطول الذيل وفتحة العين)، بعض المعايير السلوكية، بعض المتغيرات (في الدماغ والغدة اللمعابية تحت الفك السفلي) بالموجات فوق الصوتية، وعلى نسيج الغدة اللمعابية تحت الفك السفلي. بعد استحداث قصور الغدة الدرقية الناجم عن إعطاء البروبيل ثيوراسيل مباشرة بعد الولادة. بالإضافة إلى مقارنة تأثير مستخلص جذور أشواغاندا على هذه العوامل مع عقار الليفوثايروكسين

المواد وطرائق العمل: تم اختيار عشرة جردان حوامل بصحة جيدة. تم إيواء كل جرد حامل بشكل منفصل في أقفاص بلاستيك نظيفة خاصة للقوارض. تم ملاحظة الجردان حتى يوم الولادة وتم اعتباره يوم صفر. في اليوم الثالث بعد الولادة تم تقسيم أربعين من الجراء (صغار الجردان) الذكور بشكل عشوائي إلى مجموعتين رئيسيتين، المجموعة (أ) المجموعة الضابطة (ن = ١٠)، حيث تلقت الجراء الماء المقطر لمدة ٢١ يوماً عن طريق الفم، ثم استمر إعطائهم الماء المقطر لمدة ٢١ يوم أخرى. والمجموعة (ب) كمجموعة قصور الغدة الدرقية (ن = ٣٠)، والتي أعطيت (١ مجم / كجم) من البروبيل ثايوريوراسيل عن طريق الفم لمدة ٢١ يوم. في اليوم ٢٣ بعد الولادة تم تقسيم المجموعة الرئيسية (ب) إلى ثلاث مجموعات فرعية (عشرة صغار في كل مجموعة): مجموعة قصور الغدة الدرقية (ب ١)، تم إعطائها الماء المقطر لمدة ٢١ يوم لمواجهة نفس الظروف كما في بقية المجموعات. مجموعة قصور الغدة الدرقية (ب ٢) التي تلقت محلول الليفوثايروكسين (٤٠٠ مايكروجرام / ١٠٠ جم / يومياً) عن طريق الفم لمدة ٢١ يوم. مجموعة قصور الغدة الدرقية (ب ٣) التي تلقت المستخلص المائي لجذور الأشواغاندا فمويًا عن طريق ابرة خاصة تدخل للمعدة لمدة ٢١ يوم. تمت مراقبة العوامل التشريحية (وزن الجسم وطول الذيل اسبوعياً، وكذلك يوم فتح العين والذي يلاحظ من اليوم ١٣-١٧). تم إجراء مجموعة من الاختبارات السلوكية مثل البحث عن العش (يوم ٩ بعد الولادة)، اختبارات المجال المفتوح (يوم ٢٣ ويوم ٤٥ بعد الولادة) واختبار التعرف على الجسم الجديد (يوم ٢٣ ويوم ٤٥ بعد الولادة). الفحص الهرموني لكفاءة الغدة الدرقية تم إجراؤه يوم ٢٤