University of Mosul

College of Dentistry

# The Genetic Effect of Ashwagandha on Salivary Glands Function: Comparative Study with Amitriptyline

A Thesis Submitted by

**Ismail Riyadh Idrees**

To

The Council of Dentistry College / University of Mosul

as a Partial Fulfillment of the Requirements

For the Degree of Master of Science

in

Dental Pharmacology

## Supervised by

**Professor** — **Dr. Ghada Abdul Rahman Taqa**

**Lecturer** — **Dr. Saba Khairuddin**

٢٠٢٣ AD ١٤٤٤ AH

## ABSTRACT

### Objective:

The study aims to examine and compare the effects of amitriptyline and ashwagandha on salivary glands in male rats by measuring several parameters including cholinesterase gene expression , histological structure of salivary glands ,body weight ,total antioxidant capacity and cholinesterase enzyme .

### Materials and Methods:

A forty healthy adult male albino rats ٨-١٠ weeks old and weighed ٢٠٠-٢٥٠g.The animals were randomly divided according to sacrificing periods(٧,٣٠)days into two main groups A(n=٢٠) and B (n=٢٠) respectively,and each of main group were subdivided into four groups: Group I:(n=٥) were served as a control group received distilled water orally(١,٠ml/kg),group II(n=٥) received amitriptyline (١٠mg/kg),group III(n=٥) received (٢٠٠mg/kg) of ashwagandha root extract and group IV(n=٥) received a combination of amitriptyline(١٠mg/kg) and ashwagandha (٢٠٠mg/kg).

After ٧ days of administration, two hours following the last treatment, group A were put under light ether anesthesia and sacrificed.Blood samples were taken to measure total antioxidant capacity( TAC) in the serum using the total antioxidant Elisa kit and salivary glands were taken and put in buffered phosphate solution to measure acetylcholinesterase (AchE) enzyme in salivary glands tissues using acetylcholinesterase Elisa kit. After ٣٠ days of administration, the same process was carried out again for group B. Moreover, The body weight was measured every week starting from the first day of administration, acetylcholinesterase gene expression was measured using Polymerase Chain Reaction device and

salivary glands specimens were put in ١٠٪ buffered formalin solution for histological analysis

## Results:

Total antioxidant capacity at day ٧ According to the one-way analysis of variance(ANOVA) showed no significant differences in antioxidant capacity between groups treated with amitriptyline (١,٠٣±٠,٣), ashwagandha(١,٥٨±٠,٦٦)and combination group (٠,٧٩±٠,٢٥) in comparison to control group ( ١,٢١±٠,٠٨) but showed significant decrease in total antioxidant capacity at day ٣٠ between groups treated with amitriptyline alone (٠,٨٧±٠.٠٦) or in combination with ashwagandha (٠,٥٨ ± ٠,١٢) in comparison with control group and ashwagandha treated group alone (١,٢٥ ±٠,١٢) and (١,١٤ ±٠,١٢ ) respectively. at p value ≤٠,٠٥.

Acetylcholinesterase enzyme measurement in salivary glands at day ٧ showed significant increase in group treated with amitriptyline (٥,٩ ±٠,٤) alone in comparison with all other groups. but, at day ٣٠ showed significant decrease in enzyme level in group treated with amitriptyline alone (٢,٧٦±٠. ٦٤), ashwagandha alone (٣,١٨±٠,٢٨) and combination of amitriptyline with ashwagandha(١,٧٧±٠,٣٦)in comparison with control group (٤,٤٩±٠,٧٨).

Polymerase Chain Reaction(PCR) after ٣٠ days of experiment showed significant increase in acetylcholinesterase gene expression in group treated with amitriptyline alone(١,٥٥±٠,١١),and combination of amitriptyline with ashwagandha (١,٩٢±٠,١٦ ) in comparison with control group (٠,٧٦±٠,١٩ ) but no significant difference in group treated with ashwagandha alone (١,٠٧٣± ٠,٢٥) in comparison with control group.

Histological changes showed in salivary glands tissue section after ٣٠ days represented by degeneration and necrosis of epithelial cells lining granular convoluted tubules with atrophy, infiltration of inflammatory cells and congested blood vessels in amitriptyline and combination group while, normal architecture, with granular convoluted tubules, mucous and serous acinii and striated ducts in control and ashwagandha group.

## Conclusion:

Amitriptyline(١٠ mg / kg) has fleeting anticholinergic effect, enhanced acetylcholinesterase gene expression and induced oxidative stress causing degeneration of salivary glands.

Ashwagandha (٢٠٠mg/ kg) inhibited acetylcholinesterase , non significantly enhanced acetylcholinesterase gene expression ,has slight antioxidant effect on salivary glands when given alone but, ashwagandha will interact with amitriptyline causing further degeneration of salivary glands as a results of fenton reaction.

جامعة الموصل

كلية طب الأسنان

# التاثير الجيني للاشواكاندا على وظائف الغدد اللعابية: دراسة مقارنة مع الاميتريبتالين

رسالة تقدم بها

**اسماعيل رياض ادريس**

إلى

مجلس كلية طب الأسنان/جامعة الموصل

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير

في

**أدوية الفم والاسنان**

**بإشراف**

| الأستاذ | المدرس |
| --- | --- |
| **د. غادة عبد الرحمن طاقة** | **د. صبا خير الدين** |

١٤٤٤هـ ٢٠٢٣ م

# الخلاصة

**المقدمة:** يتمتع ألاميتريبتيلين بسجل حافل من النجاح في علاج الاكتئاب. الا ان استخدامه اصبح بشكل أقل بسبب آثاره الجانبية الواسعة بما في ذلك الآثار الجانبية لمضادات الكولين والإجهاد التأكسدي والسمية العالية في الجرعة الزائدة. الأشواغاندا هي عشبة قديمة لها خصائص مضادة للاكتئاب ومضادة للأكسدة. **المواد وطرائق العمل:** تم تقسيم أربعين من الجرذان البيضاء الاصحاء والتي يتراوح اعمارها من ٨ إلى ١٠ أسابيع ووزنها ٢٠٠-٢٥٠ غم بشكل عشوائي بالاعتماد على فترة القتل (٧و٣٠يوم)الى مجموعتين رئيسيتين( أ)و (ب)على التوالي؛ثم قسمت المجموعتان الرئيسيتان الى أربع مجموعات متساوية. المجموعة الأولى (السيطرة) تلقت الماء المقطر فمويا لمدة ٣٠ يومًا. تلقت المجموعة الثانية أميتريبتيلين (١٠ ملغم / كغم) فمويا لمدة ٣٠ يوما. تلقت المجموعة الثالثة مستخلصًا مائيًا من جذورالأشواغاندا بجرعة (٢٠٠ملغم / كغم) عن طريق الفم لمدة ٣٠ يومًا ، وتلقت المجموعة الرابعة مزيجًا من الأميتريبتيلين بجرعة (١٠ ملغم / كغم) عن طريق الفم ومستخلصًا مائيًا من جذورالأشواغاندا بجرعة (٢٠٠ ملغم / كغم) عن طريق الفم لمدة ٣٠ يومًا.تم تصفية الجرذان في المجموعة (أ)بطريقة القتل الرحيم بعد٧ايام من العلاج لقياس تأثير كل من الاميتريبتالين والاشواغاندا على مستوى الجهد التأكسدي في الدم ؛مستوى الاستايل كولين ايستاريز بالغدد اللعابية.تم وزن الجرذان في المجموعة (ب)على مدى فترة الدراسة لمعرفة تاثير الاميتريبتالين والاشواغاندا على نمو الجرذان.ثم تصفية الجرذان في المجموعة (ب)بطريقة القتل الرحيم بعد ٣٠ يوما من العلاج ، لقياس تأثير كل من الاميتريبتالين والاشواغاندا على مستوى الجهد التأكسدي في الدم ؛مستوى الاستايل كولين ايستاريز بالغدد اللعابية؛ مستوى جين الاستايل كولين ايستاريز بالغدد اللعابية كما وتم تشريح الغدد اللعابية وصبغها بالهيماتوكسيلين والأيوسين وفحصها نسيجيا.

**النتائج:** أظهرت نتائج بيانات وزن الجسم في هذه الدراسة عدم وجود فروق ذات دلالة إحصائية بين المجموعات الأربع في النمو أثناء التجربة في فترات(اليوم ٠، الاسبوع الاول والثاني والثالث). كما اظهرت النتائج وجود ارتفاعا معنويا احصائيا في النمو في الاسبوع الرابع في المجموعة الرابعة مقارنة مع مجموعة السيطرة.

أظهرت نتائج الدراسة الكيمياء الحياتية في الدم عدم وجود فرق معنويا إحصائيًا في مستوى مضادات الاكسدة بعد٧ايام من معالجة المجاميع الاربعة كما اظهرت النتائج انخفاضا معتد به معنويا بعد ٣٠ يوم من المعالجة بالاميتريبتالين او المعالجة بمزيج من الاميتريبتالين والاشواغاندا مقارنة بمجموعة السيطرة

أظهرت نتائج الدراسة الكيمياء الحياتية في الغدد اللعابية ارتفاعا معنويا إحصائيًا في انزيم Acetylcholinesterase بعد ٧ ايام من المعالجة بالاميتريبتالين وانخفاضا معتدا به

احصائيا في انزيم Acetylcholinesterase بعد ٣٠ يوم من المعالجة بالاميتريبتالين ؛الاشواغاندا،مزيج الاميتريبتالين والاشواغاندا مقارنة بمجموعة السيطرة

أظهرت نتائج الدراسة الجينومية في الغدد اللعابية ارتفاعا معنويا إحصائيًا في جين Acetylcholinesterase والذي يتم التعبير عنه بقيمة ΔΔ CT للمجموعة المعالجة بالاميتريبتالين,المركبة مقارنة بمجموعة السيطرة السلبية ، ولا يوجد فرق معنويا إحصائيًا في المجموعة الخاصة بالاشواغاندا مقارنة بمجموعة السيطرة السلبية .

من الناحية النسيجية، أظهرت المجموعة المعالجة بالاميتريبتالين فرط الحمضات وضمور الخلايا واحتقان الأوعية الدموية. اظهرت المجموعة المعالجة بالاشواغندا صورة نسيجية طبيعية كما وأظهرت المجموعة المعالجة بالاميتريبتالين والاشواغندا تنكسًا في الخلايا الطلائية المبطنة للأنابيب الملتفة الحبيبية ،ضمور فصيصات الأسيني ، واحتقان الأوعية الدموية.

**الاستنتاجات:** احدث الأميتريبتيلين تنكسا في الغدد اللعابية الناجم عن الإجهاد التأكسدي في حين ان اعطاء الاشواغاندا وحدها لها تأثيرات وقائية على الغدد اللعابية. لكن، عند اعطاءهما معا تداخلت الأشواغاندا مع أميتريبتيلين مما تسبب في مزيد من تدهور الغدد اللعابية نتيجة لتفاعل فينتون.