



جامعة الموصل

كلية التربية للعلوم الصرفة

دراسة نسيجية ومناعية لتقييم كفاءة فاعلية مستخلصات صمغ
اللبان العماني *Boswellia sacra* ضد داء المشوكات الكيسي
خارج وداخل الجسم الحي

براء باسل رمضان خلف

أطروحة دكتوراه

علوم الحياة

بإشراف

الأستاذ

الأستاذ

الدكتور لؤي جميل رشان

الدكتورة أسماء عبدالعزيز علي

٢٠٢٦ م

١٤٤٨ هـ

الخلاصة

يُعدّ داء المشوكات الكيسي Cystic Echinococcosis من الأمراض الطفيلية المشتركة الخطيرة، ويسببه المرحلة اليرقية للطفيلي *Echinococcus granulosus* وفي ظل الحاجة لإيجاد بدائل علاجية طبيعية أكثر أماناً مقارنة بالعلاج الكيميائي التقليدي، يعتبر صمغ اللبان العماني *Boswellia sacra* كأحد النباتات الطبية الواعدة لاحتوائه على مركبات نشطة لها خصائص مضادة للالتهابات والميكروبات ومختلف العوامل المرضية. تهدف دراستنا لتقييم فاعلية مستخلصات صمغ اللبان العماني *Boswellia sacra* ضد طفيلي المشوكة الحبيبية وتأثيرها في علاج داء المشوكات الكيسي الثانوي في الفئران. تضمنت الدراسة نوعين من التجارب : التجربة الأولى خارج الجسم: *In vitro*: لتقييم تأثير المستخلصات بتركيزات مختلفة 30،3،0.3 ميكروغرام/مل لفترات تعريض تراوحت من 2 إلى 60 دقيقة على حيوية الرؤيسات الأولية. التجربة الثانية داخل الجسم *In vivo* أجريت التجربة على الفئران البيض السويسرية (BALB/c) محقونة بالرؤيسات الأولية، حيث تم استخدام الجرعات 400،200 ملغم/كغم من مستخلصات اللبان ومقارنتها بمجموعة السيطرة الموجبة حقنت بالرؤيسات الأولية فقط، والسيطرة السالبة غير محقونة، ومجموعة الدواء القياسي البيندازول 300،150 ملغم/كغم، و اعتمدت عدة: أعداد وأوزان وأقطار الأكياس العدرية، أوزان ومعامل تضخم الكبد والطحال، قياس الساييتوكينات المناعية $IL-5$, $TNF-\alpha$, $IFN-\gamma$ في مصل الدم، اختبار فرط الحساسية المتأخر (DTH)، والتغيرات النسيجية المرضية في الكبد والطحال ، بعد ستة اشهر من الاصابة .

اظهرت نتائج الدراسة مايلي:

زيادة نسب قتل الرؤيسات الاولية بالمقارنة مع البيندازول الدواء القياسي لعلاج داء المشوكات الكيسي وال DMSO المذيب المستخدم في اذابة مستخلصات اللبان العماني في تجارب *in vitro* بزيادة مدة التعريض، وزيادة التركيز، اذ بلغت اعلى نسبة قتل 100% للمستخلص المائي لراتنج صمغي اللبان العماني Bs7 عند التركيزين 30 ميكروغرام/مل ، 3 ميكروغرام/مل ، بعد 60 دقيقة من التعريض، تلاه المستخلص الميثانولي Bs4 97.71% عند التركيز 30 ميكروغرام/مل بعد 60 دقيقة للتعريض.

كما لوحظ اختزال اعداد الاكياس العدرية في الفئران المعاملة بنسب بلغت 97.97% لمستخلص الايثانولي لصمغ اللبان العماني Bs2 عند التركيز 200 ملغم/كغم، 97.460 % لصمغ اللبان العماني Bs13 عند التركيز 400 ملغم/كغم، و 96.955% للمستخلص الميثانولي Bs4 عند التركيز 200 ملغم/كغم في مجاميع الفئران المعاملة بمستخلصات صمغ اللبان العماني بعد ستة اشهر من الاصابة. انخفاض معنوي $P \leq 0.001$ في اعداد الاكياس العدرية المتكونة في الفئران المعاملة بمستخلصات صمغ اللبان العماني، بلغ 0.571 للمستخلص الايثانولي Bs2 عند التركيز 200 ملغم/كغم مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة 28.143، بعد

سنة أشهر من الإصابة، كما بلغت ادنى قيمة لأقطار الاكياس 0.036 ملم لراتنج الصمغ اللبان العماني الخام Bs13 عند التركيز 400 ملغم/كغم، مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة 2.548 ملم، بينما سجل ادنى قيمة لاوزان الاكياس المائية 0.030 غم لراتنج صمغ اللبان العماني الخام Bs13 400 ملغم/كغم، مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة 11.547 غم بعد ستة أشهر من الإصابة.

لوحظ انخفاض معنوي $P \leq 0.01$ في اوزان الكبد والطحال ومعدل تضخمهما في الفئران المعاملة بمستخلصات اللبان، كان ادنى وزن للكبد 2.22 غم لمستخلص الميثانولي Bs4 عند التركيز 200 ملغم/كغم، مقارنة بمجموعة السيطرة 2.730 غم، كما بلغ معامل تضخم الكبد 108.8 في مجموعة المعاملة بمستخلص الايثانولي بجرعة 400 ملغم/كغم، مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة 138.48، اما بالنسبة لوزن الطحال فسجلت المجموعة السيطرة الموجبة 1.058 غم، وبلغت ادنى قيمة لمعامل تضخم الطحال في مجموعة المعاملة بالبيندازول 31.760 عند التركيز 150 ملغم/كغم، مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة 34.442.

أظهرت نتائج قياس الساييتوكينات بعد ستة أشهر من الإصابة وجود فروق معنوية ذات دلالة إحصائية بين المعاملات وفق اختبار ANOVA ، IL-5 لم تسجل مستخلصات صمغ اللبان العماني الايثانولي، الميثانولي، صمغ اللبان الخام او البيندازول ABZ أي فروق معنوية مقارنة بمجموعتي السيطرة الموجبة 1.70 بيكوغرام/مل والسالبة 14.67 بيكوغرام/مل. بينما ارتفعت مستويات TNF- α حيث سجلت أعلى قيمة 147.88 بيكوغرام/مل في المعاملة بصمغ اللبان الخام Bs13 عند التركيز 200 ملغم/كغم مقارنة بمجموعة السيطرة الموجبة حيث سجلت 113.87 بيكوغرام/مل. سجل الساييتوكين IFN- γ أعلى قيمة بين الساييتوكينات المقاسة، حيث بلغت 315.08 بيكوغرام/مل عند مجموعة المعاملة باللبان الخام Bs13 عند التركيز 200 ملغم/مل مقارنة بالسيطرة الموجبة التي سجلت 265.71 بيكوغرام/مل. لوحظ زيادة معنوية ذات دلالة احصائية في الاستجابة المناعية للفئران في اختبار ANOVA.

اظهرت المقاطع النسيجية لأنسجة الكبد والطحال في مجاميع الفئران المعاملة بمستخلصات اللبان العماني تراجعاً واضحاً في حدة الالتهاب والتتخر والارتشاح الخلوي، واقتصرت المظاهر النسيجية المرضية على التنكس الفجوي الطفيف نتيجة لتراكم السوائل، مقارنة بالمجموعة السيطرة الموجبة الذي اظهرت تنكساً فجوياً مع تليف نسيجي وزيادة واضحة في ترسب الياف الكولاجين . أثبتت مستخلصات صمغ اللبان العماني فاعلية عالية في قتل الرؤيسات الأولية خارج الجسم، مع فاعلية في اختزال أعداد الأكياس العدرية في جسم الكائن الحي مقارنة بالدواء القياسي البيندازول . كما أظهرت قدرة ملحوظة على تحفيز الاستجابة المناعية الخلوية وتخفيف الضرر والتغيرات النسيجية المرضية في الكبد والطحال.

Abstract

Cystic echinococcosis (CE) is recognized as a severe zoonotic parasitic disease caused by the larval stage of *Echinococcus granulosus*. Given the imperative for safer natural therapeutic alternatives compared to conventional chemotherapy, the oleo-gum-resin of Omani Frankincense *Boswellia sacra* emerges as a promising medicinal botanical due to its bioactive constituents displaying anti-inflammatory, antimicrobial, and broad-spectrum antipathogenic properties. This study aimed to evaluate the efficacy of *B. sacra* gum extracts against *E. granulosus* parasites and their therapeutic impact on secondary cystic echinococcosis in a murine model.

The investigation comprised two experimental phases:

In Vitro experiment: Evaluated the effect of various extract concentrations (0.3, 3, and 30µg/mL) exposure intervals ranging from 2 to 60 minutes on protoscolices viability.

In Vivo experiment: Performed using Swiss albino mice (BALB/c) inoculated with protoscolices. Doses of 200 and 400mg/kg of *B. sacra* extracts were administered and compared against:

A positive control group (inoculated with protoscoleces only), a negative control group (uninfected), and a standard drug control group treated with albendazole (ABZ) at 150 and 300mg/kg.

Evaluation criteria assessed six months post-infection included: hydatid cyst count, weight, and diameter; liver and spleen weight alongside their organomegaly/hypertrophy indices; serum cytokine levels (IL-5, TNF- α , IFN- γ); delayed-type hypersensitivity (DTH) response; and histopathological alterations in liver and spleen tissues.

Results:

In Vitro Scolicidal Activity: *B. sacra* extracts demonstrated significantly higher protoscolicidal rates compared to albendazole and the DMSO vehicle control, exhibiting time- and concentration-dependent activity. The aqueous extract of Omani Frankincense resin (Bs7) achieved the highest protoscolicidal efficacy 100% at concentrations of 3 and 30µg/mL after 60 minutes of exposure, followed by the methanolic extract (Bs4), which achieved 97.71% mortality at 30µg/mL after 60 minutes.

In Vivo Parasitological Efficacy: A significant reduction in hydatid cyst burden was observed in treated mice six months post-infection: Methanolic extract Bs2 (200mg/kg) demonstrated a 97.97% reduction in cyst numbers. Oleo gum resin powder Bs13 (400mg/kg) achieved a 97.46% reduction. Methanolic extract Bs4 (200mg/kg) further showed a 96.955% reduction across treated mouse cohorts.

A statistically significant decrease ($P \leq 0.001$) in cyst count was recorded in extract-treated groups, reaching a mean of 0.571 cysts in mice treated with the ethanolic extract Bs2 (200mg/kg), compared to 28.143 in the positive control group. The lowest cyst diameter (0.036 mm) and lowest cyst weight (0.030 g) were recorded with raw resin extract Bs13 at 400mg/kg, compared to 2.548mm and 11.547g in the positive control group, respectively.

Organ Metrics & Hypertrophy: A statistically significant decline ($P \leq 0.01$) in liver and spleen weights, along with their respective hypertrophy indices, was documented across the treatment groups. The lowest mean liver weight recorded was 2.22 g in the methanolic extract Bs4 group (200mg/kg), compared to 2.73 g in the positive control group. The liver hypertrophy index dropped to 108.80 in the 400 mg/kg ethanolic extract group compared to 138.48 in positive controls. Regarding spleen metrics, the positive control group registered a mean weight of 1.06 g, whereas the lowest spleen hypertrophy index 31.76 was

achieved in the albendazole group (150mg/kg), compared to 34.44 in the positive control group.

Immunological Response: Cytokine profiling six months post-infection revealed statistically significant variations among groups via ANOVA:

IL-5: No statistically significant differences were noted between groups treated with ethanolic, methanolic, or raw *B. sacra* extracts, albendazole, or the positive 11.70pg/mL and negative 14.67pg/mL control groups.

TNF- α : Levels increased substantially markedly, peaking at 147.88pg/mL in the raw resin group Bs13 200 mg/kg, compared to 113.87pg/mL in positive controls.

IFN- γ : Represented the highest expressed cytokine, peaking at 315.08 pg/mL in the raw resin group Bs13 (200mg/kg), compared to 265.71 pg/mL in positive controls. Overall, a statistically significant enhancement in cell-mediated immune response was confirmed via ANOVA.

Histopathological Findings: Liver and spleen sections from mice treated with *B. sacra* extracts demonstrated a marked attenuation of inflammatory severity, necrosis, and cellular infiltration, with pathological changes limited to mild vacuolar degeneration associated with cellular edema. Conversely, positive control sections exhibited severe vacuolar degeneration accompanied by tissue fibrosis and marked collagen fiber deposition.

Conclusion: Omani Frankincense *Boswellia sacra* extracts demonstrated potent *in vitro* scolicidal efficacy and significantly reduced cyst burden *in vivo* compared to the standard drug albendazole. Furthermore, the extracts markedly stimulated cell-mediated immune responses and attenuated organ histopathology in the liver and spleen.

دراسة نسيجية ومناعية لتقييم كفاءة فاعلية مستخلصات صمغ اللبان العماني *Boswellia sacra* ضد داء المشوكات الكيسي خارج وداخل الجسم الحي

الناشر : جامعة الموصل

بإشراف : أ.د. أسماء عبدالعزيز علي
أ.د.لؤي جميل رشان

المؤلف : براء باسل رمضان

HIGHLIGHTS	GRAPHICAL ABSTRACT
<p>استخدمت مستخلصات صمغ اللبان العماني في تجارب خارج الجسم عند أوقات تعريض 2-60 دقيقة وبتراكيز مختلفة، في تجارب داخل الجسم بعد 6 اشهر بعد الإصابة تم تجريع الفئران بمستخلصات صمغ اللبان العماني وُتم اختيار عدة معايير: اعداد فرط الحساسية المتأخر، قياس مستوى السايٲوكينات، اوزان الكبد والطحال ومعامل تضخمهما، مقاطع نسيجية</p>	<p>GRAPHICAL ABSTRACT: APPARATUS AND METHODOLOGY FOR EVALUATING OMANI FRANKINCENSE (<i>BOSWELLIA SACRA</i>) EXTRACTS AGAINST CYSTIC ECHINOCOCCOSIS</p> <p>IN VITRO خارج الجسم Echinococcus granulosus Protoscoleces 1 تجهيز الرؤيسات 2 التعرض للمستخلصات (Bs) جهاز قارئ الصفيحة (Microplate Reader) مستخلصات اللبان العماني Boswellia sacra تراكيز مختلفة Various Concentrations التعرض 2-60 دقيقة Exposure 2-60 mins جهاز طرد مركزي (Centrifuge) قياس الحيوية Viability Assay قياس السايٲوكينات (IL-5, TNF-α, IFN-γ) Cytokine Measurement</p> <p>IN VIVO داخل الجسم الفئران البيضاء (BALB/c) 1 الحقن بالرؤيسات Protoscoleces Inoculation 2 العلاج السيطرة الموجبة السيطرة السالبة البيندازول (ABZ) تراجع حدة الالتهاب مستخلصات اللبان (Bs) Reduced Inflammation تغيرات نسيجية (الكبد والطحال) Histopathological Changes - Liver & Spleen اختبار فرط الحساسية المتأخر (DTH) Delayed-Type Hypersensitivity Test قياس الأكياس العذرية (العدد، القطر، الوزن) Hydatid Cyst Measurement - Count, Diameter, Weight</p>
<p>الكلمات المفتاحية : داء المشوكات الكيسي، مستخلصات صمغ اللبان العماني، المستخلص الإيثانولي، تضخم الكبد ، فئران BALB</p>	<p>الخلاصة <i>Echinococcus</i> ضد طفيلي (<i>Boswellia sacra</i>) تُقيم الدراسة فاعلية مستخلصات صمغ اللبان العماني أظهر .في الفئران (<i>In vivo</i>) وداخله (<i>In vitro</i>) المسبب لداء المشوكات الكيسي خارج الجسم <i>granulosus</i> وفي الجسم .لرؤيسات الأولية مختبرياً بعد 60 دقيقة (100%) نسبة قتل كاملة (Bs7) المستخلص المائي ، وحقق اللبان الخام 97.97% أعداد الأكياس العذرية بنسبة (Bs2) الحي، اختزل المستخلص الإيثانولي كما خفضت المستخلصات أوزان وتضخم الكبد والطحال، وحفرت .أدنى قطر ووزن للأكياس (Bs13) تؤكد النتائج كفاءة اللبان العماني .(TNF-α و IFN-γ) المناعة الخلوية بزيادة السايٲوكينات كبديل طبيعي يتفوق على البيندازول في قتل الطفيلي وتخفيف التغيرات النسيجية</p> <p>2024 M.Sc. Thesis @Univ. of Mosul, College of Eng., Civ. Eng. Dept. (https://www.baraa.22esp2@student.uomosul.edu.iq/) (https://uomosul.edu.iq/libcentral) E-Mail : central_library@uomosul.edu.iq</p>

University of Mosul
College of Education
for Pure Science



**Histological and Immunological Evaluation of the
Efficiency of Omani Frankincense (*Boswellia sacra*)
Gum Resin Extracts Against Cystic Echinococcosis
In Vitro and *In Vivo***

Baraa Basil Ramadhan Khalaf

Ph.D. Thesis

Biology

Supervised by

Prof.

Dr. Asmaa Abdulazeez Ali

Prof.

Dr. Luay Jameel Rshan

2026 A.D.

1448 A.H.