

**МЕЖДИНЕН НАУЧЕН И ФИНАНСОВ ОТЧЕТ НА
ПЪРВИЯ ЕТАП ОТ ИЗПЪЛНЕНИЕТО НА ПРОЕКТ
№ 522/2025 г.**

**ТЕМА: „ИЗСЛЕДВАНЕ НА АДАПТОГЕННИЯ ЕФЕКТ НА
ЕКСТРАКТ ОТ *SAMBUCUS NIGRA* ВЪРХУ СТРЕС-
ИНДУЦИРАНИТЕ ПРОМЕНИ В ПОВЕДЕНИЕТО И
ВЪЗПАЛИТЕЛНАТА РЕАКЦИЯ ПРИ ЮВЕНИЛНИ
ПЛЪХОВЕ“**

Ръководител: Доц. д-р Даниела Маринова Пехливанова

Работен колектив:

- 1. Доц. д-р Даниела Маринова Пехливанова Медицински факултет, БДУ “Проф. Асен Златаров“; Институт по невробиология, БАН**
- 2. Доц. д-р инж. Йордан Николаев Георгиев Медицински факултет, БДУ “Проф. Асен Златаров“**
- 3. Гл. ас. д-р Марина Янева Янева Медицински факултет, БДУ “Проф. Асен Златаров“**
- 4. Гл. ас. д-р Борислав Вениславов Асенов Медицински факултет, СУ „Св. Кл. Охридски“; Институт по невробиология, БАН**
- 5. Ас. Даяна Венциславова Мануелян, дв, млад учен Медицински факултет, БДУ “Проф. Асен Златаров“**
- 6. Студент Ахмед Узаир Бът Медицински факултет, БДУ “Проф. Асен Златаров“**
- 7. Студент Юсеф Мохамед ал Шамали Медицински факултет, БДУ “Проф. Асен Златаров“**
- 8. Студент Кремена Йорданова Медицински факултет, БДУ “Проф. Асен Златаров“**

АНАЛИЗ НА СЪСТОЯНИЕТО НА ИЗСЛЕДВАНИЯТА ПО ПРОБЛЕМА

- Различните форми на **стрес в ранна детска и юношеска възраст** могат да имат отрицателно въздействие върху **имунитета и поведението** на индивидите след достигане на зряла възраст.
- Усилията на учените са насочени към търсене на нови **адаптогени**, които предотвратяват разгръщането на неблагоприятните последствия от хроничния стрес.
- **Sambucus nigra (SN)** е растение с дълга история на приложение в народната медицина. Екстракти от **SN** имат противовъзпалителни и имуномодулиращи ефекти и са сред най-често използваните хранителни добавки за деца и юноши. Въпреки това липсват данни за потенциални късни ефекти от прилагането им върху мозъчната пластичност, възпалителните маркери и поведението през тези критични периоди на съзряване.
- Прилагането на стандартизирани липополизахариди (LPS) от *Escherichia coli* представлява един широко използван експериментален модел у гризачи, съпроводен с освобождаване на провъзпалителни цитокини и други сигнални молекули.

ЧЕРЕН БЪЗ (*SAMBUCUS NIGRA*)

- *Sambucus nigra* (черен бъз) е традиционно лечебно растение, богато на **антоциани, флавоноиди и полизахариди**.
- Използва се за подпомагане на имунната защита и за намаляване на възпалението.
- Съвременни изследвания показват адаптогенните му свойства – **балансиране на имунните реакции при стресови условия**.
- Доказателствата идват от клинични проучвания, *in vivo* модели при животни и *in vitro* експерименти.



ЧЕРНИЯТ БЪЗ ПРИ НАСТИНКИ/ГРИП

- Мета-анализ на няколко рандомизирани клинични проучвания (180 участници).
- Участници: възрастни с инфекции на горните дихателни пътища (настинка и грип).
- Интервенция: стандартизиран екстракт от бъз срещу плацебо.
- Резултати:
- **По-кратка продължителност на заболяването (с ~2 дни).**
- **По-леки симптоми в сравнение с плацебо.**
- Заключение: Бъзът е **безопасна и ефективна подкрепяща терапия при имуен стрес**, причинен от вирусни инфекции.

(Hawkins et al., 2019 PubMed)

ЧЕРНИЯТ БЪЗ НАМАЛЯВА ВЪЗПАЛЕНИЕТО В МОДЕЛИ НА КЛЕТЪЧНИ КУЛТУРИ

- Вид на изследването: *in vitro* върху хипертрофирани адипоцити (3T3-L1) и активирани макрофаги (RAW 264.7).
- Модел: клетки, имитиращи метаболитен и възпалителен стрес.
- Интервенция: екстракт от плод на бъз, богат на антоциани.
- Резултати:
 - ↓ **TNF- α** и **IL-6** (про-възпалителни цитокини).
 - ↓ азотен оксид и експресия на **COX-2**.
 - ↑ **инсулинова чувствителност при стресирани адипоцити.**
- (*Zielińska-Wasielica et al., 2019 PubMed*)

ЕКСТРАКТЪТ ОТ ЧЕРЕН БЪЗ НАМАЛЯВА КЛЕТЪЧНИЯ СТРЕС

- Безопасен за клетките: няма намаляване на жизнеспособността на адипоцитите.
- Антиоксидантен ефект:
↓ **ROS**; ↑ **SOD2** и **GPx**.
- Противовъзпалителен ефект: ↓ **про-възпалителни цитокини**.
- Метаболитен баланс: ↓ **лептин (LEP)**; ↑ **адипонектин (ADIPOQ)**; подобрява **инсулиновата рецепторна чувствителност**.
- Хистология: **клетките, третирани с бъз, запазват по-здрава морфология в сравнение с контроли**.

(Zielińska-Wasielica et al., 2019 PubMed)

ЧЕРНИЯТ БЪЗ БАЛАНСИРА ИМУННИЯ ОТГОВОР ПРИ МИШКИ

- Вид на изследването: *in vivo* (мишки, модел на възпаление).
- Модел: **LPS-индуциран имунен стрес** (ендотоксиново предизвикателство).
- Интервенция: лиофилизиран екстракт от цветове на бъз (*Sambucus nigra*).
- Резултати:
- **↓ TNF- α , IL-1 β , IL-6** (про-възпалителни цитокини).
- **↑ IL-10** (противовъзпалителен цитокин).
- **↓ миграция на неутрофили и макрофаги.**
- **↑ ефероцитоза** (очистване на мъртви клетки).

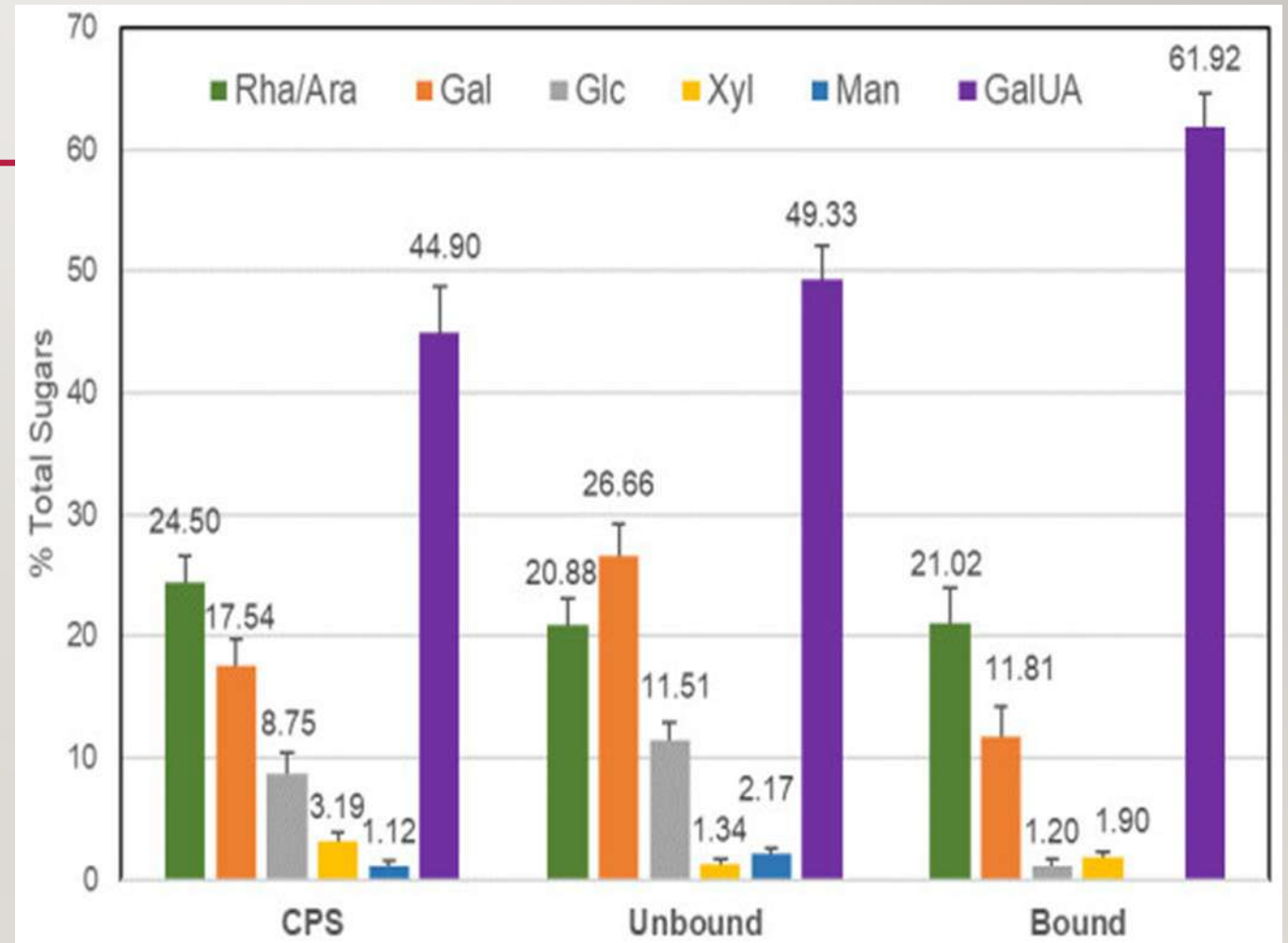
(Santin et al., 2022)

ХРАНИТЕЛНА ДОБАВКА С БЪЗ НАМАЛЯВА ИНФЕКЦИИТЕ ПРИ ДЕЦА

- Вид на изследването: реално клинично проучване в педиатрична практика.
- Популация: 298 деца с рецидивиращи респираторни инфекции.
- Интервенция: 160 деца получават капки на основата на бъз (екстракт от бъз + β -глюкан + цинк + витамин D₃) за 4 месеца.
- Контрол: 138 деца получават само стандартна терапия.
- Резултати:
- ↓ честота и продължителност на инфекциите ($p < 0.001$).
- По-добра оценка от страна на родителите за симптомите и ефективността на лечението. (Не са докладвани странични ефекти. (Giannattasio et al., 2022))

ПОЛИЗАХАРИДЕН СЪСТАВ НА ЕКСТРАКТ ОТ БЪЗ (*STICH ET AL., 2022*)

- За да се идентифицират активните молекули, полизахаридите са изолирани и разделени на три фракции: **CPS**, **Unbound**, **Bound**.
- Химичният анализ показва захарния им състав.
- **Основна захар: галактуронова киселина (GalUA)** – до 61.9% в Bound фракцията.
- Други захари: **рамноза, арабиноза, галактоза, глюкоза, ксилоза, маноза.**



ИМУНОМОДУЛИРАЩИ ЕФЕКТИ НА ПОЛИЗАХАРИДИТЕ ОТ БЪЗ

- In vitro модел: кокултура от дендритни клетки (DCs) и Т-клетки с полизахаридни фракции от бъз.
- Наблюдавани ефекти:
- **Стимулирано узряване на дендритните клетки.**
- **Засилена активация и пролиферация на Т-клетките.**
- **↑ продукция на цитокини: IL-6, TNF- α , IFN- γ .**
- Заключение: Полизахаридите от бъз могат да **подготвят** имунната система и да **подсилят** връзката между вродения и адаптивния имунитет. (*Stich et al., 2022*)



ЦЕЛ НА ПРОЕКТА:

- Целта на настоящия проект е да установят последствията от хроничното третиране с екстракт от *Sambucus Nigra* (SN), преди и по време на LPS-индуцирана имунна реакция, върху параметрите на възпаление, поведението и паметта при ювенилни плъхове Wistar.



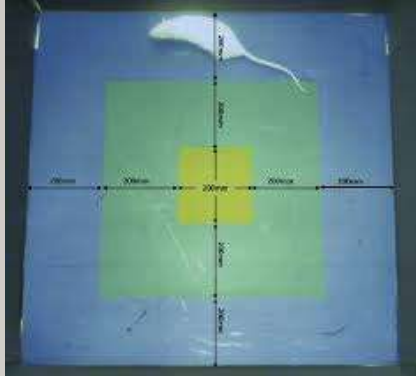
МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ



- Получени бяха необходимите за изследването количества пречистен, лиофилизиран екстракт от SN, събран от екологично чист регион около село Ярлово, област Самоков.
- Голяма част от изследванията бяха проведени в Институт по невробиология, Българска Академия на науките, където има сертифицирани лаборатории за работа с експериментални животни. Ювенилни плъхчета (на възраст 21 дни) от порода Wistar бяха разделени на две групи - контролна и третирана с екстракт от SN в доза 100 мг/кг за 14 дни, с две подгрупи мъжки и женски.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

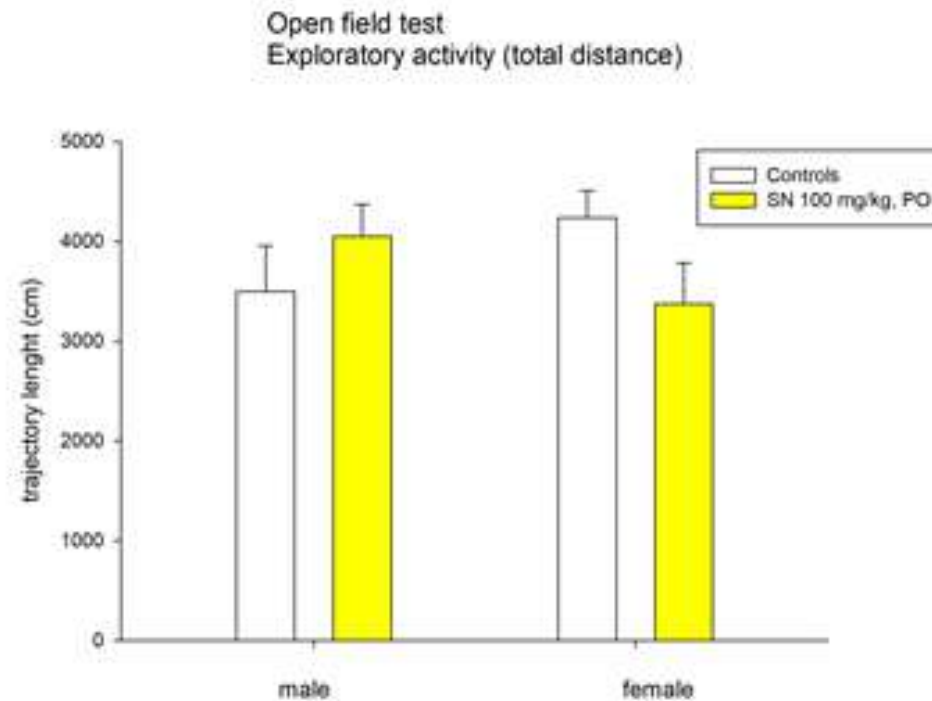
- В края на третирането експерименталните животни бяха подложени на батерия от поведенчески тестове включващи:
- Тест „отворено поле“ за оценка на изследователското поведение в непозната околна среда;
- тест „повдигнат кръстосан лабиринт“ за изследване на тревожното поведение,;
- тест „т-лабиринт“ за изследване на пространствената и работната памет;
- плантарен тест за изследване на прага на болкова чувствителност при термичен стимул.
- Всички данни бяха обработени статистически с програмата SIGMAstat посредством двуфакторен ANOVA с фактори пол и третиране.

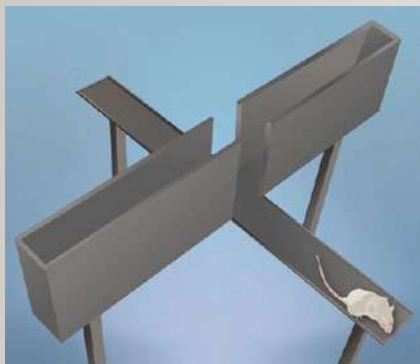


РЕЗУЛТАТИ

След края на третирането беше проучено изследователското поведение в непозната среда, с помощта на апарата „Open field“. Дължината на изминатата траектория във всяка от дефинираните активни зони беше записана с камера и преобразувана в числени стойности от софтуер SMART PanLab software (Harvard).

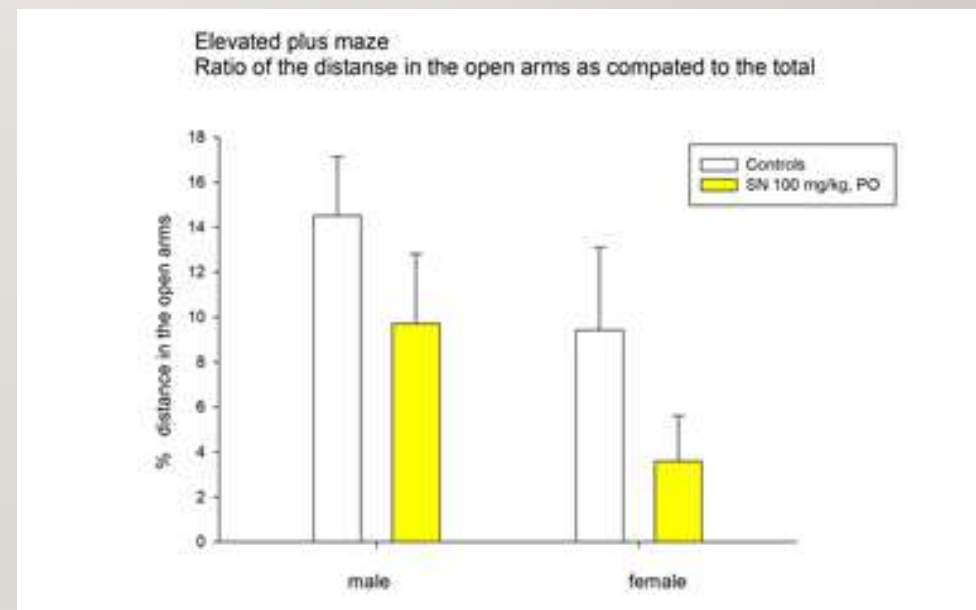
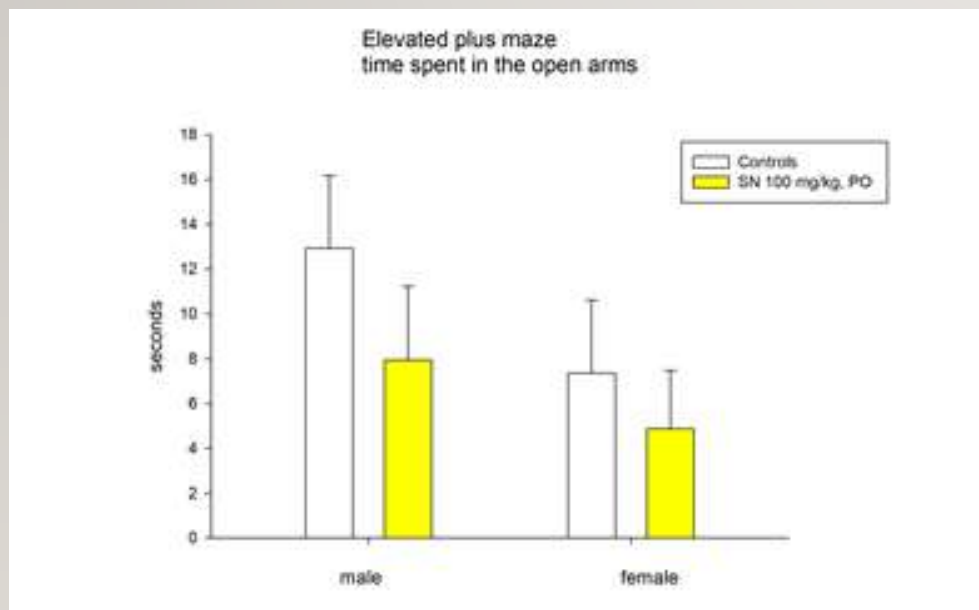
Хроничното третиране с SN на здравите животни не предизвика статистически достоверни промени в нормалното изследователско поведение (Фиг. 1). Беше забелязана тенденция към понижена двигателна активност у женските плъхчета третирани с екстракта.





РЕЗУЛТАТИ

Данните от “Elevated plus maze” също не показаха съществени промени в нормалното тревожно поведение при поставяне в предизвикателна среда (Фиг.2 А, В).

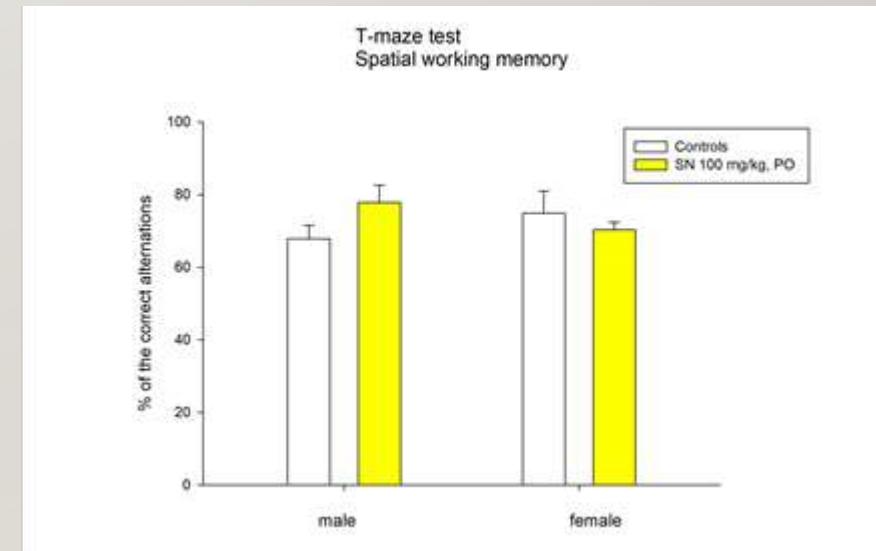
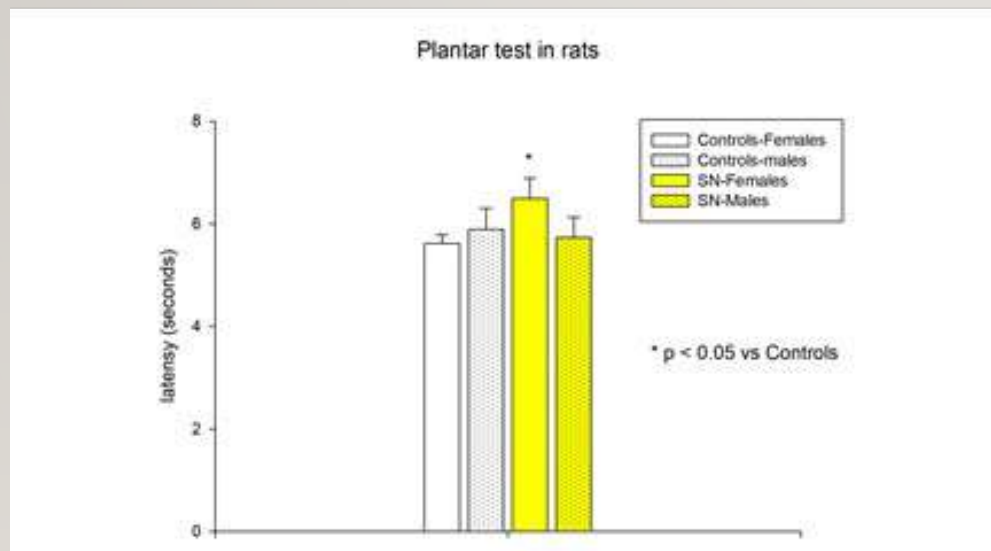




РЕЗУЛТАТИ



Резултатите от изследването на острия термичен праг на ноцицепция не показаха съществени разлики между двата пола, които бяха третирани с разтворителя, но женските плъхчета третирани бъзов екстракт показаха повишен праг на чувствителност (фиг.3). Не беше установена полова разлика или ефект на третирането върху формирането на пространствената работна памет (Фиг. 4).



ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЕ В НАУЧНИ ФОРУМИ

Мануелян Д., Георгиев Й., Пехливанова Д. Иммунна подкрепа в условия на стрес: адаптогенни свойства на екстракти от *Sambucus nigra*. Сборник с доклади от национална конференция с международно участие “Природни науки“, 2025, Университетско издателство „Епископ Константин Преславски“, 2025, 46-53.

Участия в научни форуми с международно участие

- Мануелян Д., Георгиев Й., Пехливанова Д. Иммунна подкрепа в условия на стрес: адаптогенни свойства на екстракти от *Sambucus nigra*. XXIII Национална конференция с международно участие “Природни науки“, 10-11 Октомври 2025, Шумен. <https://ncns.shu.bg/bg/programa.php>
- Manuelyan D, Pechlivanova D, Chronic stress-induced behavioral changes in juvenile rats. 6th Balkan Conference on BioSciences, October 30-31 - Plovdiv, Bulgaria. <https://balkanbio.uni-plovdiv.bg>

ФИНАНСОВ ОТЧЕТ

1	Апаратура и оборудване		800.00	7.	Участия в научни форуми		
	Мултифункционално устройство за печат, сканиране и копиране	1			Един участник в "6th Balkan Conference on BioSciences"	1 такса	400.00
2	Реактиви, химикали, тестове		4786.00		Един участник в Национална конференция с международно участие „Природни науки 2025”, гр. Шумен	1 такса	120.00
	Липополизахариди от Escherichia coli -	10 mg		9.	За публикуване на научните резултати		
	Етилов алкохол (95% v/v, медицински)	12 литра	600.00		Няма		
	Rat Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF-alpha) ELISA Kit	1	96.00	12.	Възнаграждение на финален рецензент		130.00
	Rat IL-1 beta (Interleukin 1 Beta) ELISA Kit	1	2900.00			2 рецензенти	65.00
	Rat BDNF ELISA Kit	1	1200.00	13.	Задължителни отчисления към базовата организация		771.00
3	Лабораторни консумативи		96.00		Задължителните отчисления в размер на 10% от общия бюджет на проекта се превеждат за режийни разходи на УАЗ:		
	Накрайници за автоматична пипета (до 1000 µL)	1 опаковкd /1000 бр/	30.00	14.	ОБЩО		7710.00
	Епруветки за серум с клот активатор	2 опаковки /100 бр/	66.00				
4	Канцеларски материали и консумативи		12.00				
	Копирна хартия						
6	Командировки						
6.1.	Командировки в България						
	1 участник, 1 нощувка, 2 дневни, 1 двупосочен билет	1 командировка	220.00				
	1 участник, 1 нощувка, 2 дневни, 1 двупосочен билет	1 командировка	220.00				
	2 участници, 1 нощувка, 4 дневни, 2 двупосочни билета	2 командировки	210.00				
6.2.	Командировки в чужбина						
	няма						

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- Настоящият проект би имал съществено значение за разкриване на нови механизми, чрез които природни продукти влияят на възпалителните отговори при подрастващи индивиди. Резултатите биха имали и научно-приложно значение за прецизираното приложение на фракции от SN и за тяхното безопасно приложение.
- Получените оригиналните данни ще бъдат подготвени и публикувани в реферирано научно списание.
- В рамките на настоящия проект ще бъдат обучавани студенти за лабораторна научна работа и създаване на умения за критично мислене и работа в екип.
- Предвижда се проектът да послужи за основа за разработване на дисертационен труд на асистент Даяна Мануелян от катедра „Физиология, патофизиология, медицинска генетика, паразитология, клинична лаборатория и имунология“.
- Този проект би подкрепил значително научно-изследователската активност в БДУ „Асен Златаров“ и кариерното развитие на студентите и академичния състав.

Литература:

- Hawkins J, Baker C, Cherry L, Dunne E. 2019. *Black elderberry supplementation effectively treats upper respiratory symptoms: A meta-analysis of randomized, controlled clinical trials.* **Complement Ther Med.** 42:361–365. (PubMed)
- Zielińska-Wasielica J, Olejnik A, Kowalska K, et al. 2019. *Elderberry (*Sambucus nigra* L.) fruit extract alleviates oxidative stress, insulin resistance, and inflammation in hypertrophied 3T3-L1 adipocytes and activated RAW 264.7 macrophages.* **Foods.** 8(8):326. (PubMed)
- Santin JR, et al. 2022. *Sambucus nigra: A traditional medicine effective in reducing inflammation in mice.* **J Ethnopharmacol.** 283:114670. (Full text)
- Giannattasio A, et al. 2022. *Primary care experience with Stimunex drops in children with recurrent respiratory infections: A real-world study during the COVID-19 pandemic era.* **Allergol Immunopathol (Madr).** 50(4):94–101. (PubMed)
- Stich L, et al. 2022. *Polysaccharides from European Black Elderberry Extract enhance dendritic cell mediated T cell immune responses.* **Int J Mol Sci.** 23(8):3949. (PubMed)



БЛАГОДАРЯ ЗА ВНИМАНИЕТО!

Черният бъз – мост между традицията и съвременната наука за имунната подкрепа при стрес.

