

Резюмета

НА ПУБЛИКАЦИИ ПО АКАДЕМИЧНА СПРАВКА
НА Д-Р АНТОАНЕТА ГЕОРГИЕВА, Д.М.

Г7.1. Reysov M, Novakovic M, Tesevic V, Georgieva A, Eftimov M, Todorova M, Valcheva-Kuzmanova S. The flavonoid fustin exerts anti-inflammatory effect in a model of carrageenan-induced paw oedema. Acta Alimentaria 2023; 52(1):155-62.

Carrageenan-induced paw oedema is a widely used model of acute inflammation. The objective of this study was to assess the effect of the flavonoid fustin on carrageenan-induced acute paw inflammation in rats. Thirty male Wistar rats were distributed equally between three groups – control, F10, and F20. In the course of 1 week, animals were treated once daily by intragastric gavage as follows: control group – with distilled water (10 mL/kg) containing 50 µL Tween 80; groups F10 and F20 – with 10 mL/kg suspensions containing fustin in two doses (10 mg/kg and 20 mg/kg, respectively) and 50 µL Tween 80. After the treatment period, carrageenan was injected in the left hind paw and paw oedema was evaluated 0, 30, 60, 120, 180, 240, and 300 min after the injection using a plethysmometer. In the control group, paw oedema increased gradually and peaked at the 180th minute. Fustin treatment reduced the oedema in all time intervals and the effect was significant on the 30th and 60th minute after the injection. The present study indicated that fustin could suppress acute inflammation.

Keywords: fustin, anti-inflammatory, carrageenan, paw, oedema, rats

Рейзов М, Новакович М, Тешевич В, Георгиева А, Ефтимов М, Тодорова М, Вълчева-Кузманова С. Флавоноидът фустин демонстрира противовъзпалителен ефект в модел на карагенан-индуциран оток на лапата. Acta Alimentaria 2023; 52(1):155-62.

Карагенан-индуцираният оток на лапата е широко използван животински модел на остро възпаление. Целта на настоящото изследване е да се оцени ефекта на флавоноида фустин в модел на карагенан-индуцирано остро възпаление на лапата при плъхове. 30 мъжки плъха порода Wistar бяха разпределени поравно в три групи – контролна, F10 и F20. В продължение на една седмица животните бяха третираны всекидневно чрез орогастрален лаваж със следните вещества: контролната група – с дестилирана вода (10 mL/kg), съдържаща и 50 µL Tween 80; групи F10 и F20 – с 10 mL/kg суспензия на фустин в две различни дози (10 mg/kg и 20 mg/kg), съдържаща и 50 µL Tween 80. В края на периода на третиране карагенан беше инжектиран в лявата задна лапа и отокът беше измерен след 0, 30, 60, 120, 180, 240 и 300 min чрез плетизмометър. При животните от контролната група отокът нарастваше непрекъснато, с максимум след 180 min. Претретирането с фустин намали отока при всички времеви интервали, като статистическа значимост беше постигната 30 и 60 min след инжектирането. Настоящите резултати предполагат, че фустин може да потисне острото възпаление.

Ключови думи: фустин, противовъзпалително, карагенан, лапа, оток, плъхове

Г7.2. Georgieva A, Todorova M, Eftimov M, Kuzmanov K, Valcheva-Kuzmanova S. Behavioral effects of *Aronia melanocarpa* fruit juice in a rat model of ovariectomy-induced estrogen deficit. Folia Medica 2022; 64(6):975-981.

Introduction: The ovariectomized rat is a model used to mimic the changes in female organism during menopause. *Aronia melanocarpa* fruit juice (AMFJ) is extremely rich in phenolic substances (procyanidins, flavonoids and phenolic acids).

Aim: The present study aimed to evaluate the effects of AMFJ on rat behavior in a model of ovariectomy-induced estrogen deficit.

Materials and methods: Four groups of female Wistar rats were used, each consisting of 14 animals – sham operated (SO), ovariectomized (OVX), OVX+AMFJ5, and OVX+AMFJ10. After two-week recovery from the operation, three-month oral treatment was performed with distilled water for the SO and OVX groups, and AMFJ at doses of 5 ml/kg and 10 ml/kg for the OVX+AMFJ5 and OVX+AMFJ10 groups, respectively. Then, behavioral tests were conducted. Locomotor activity was assessed using the open field test (OFT). Anxiety was evaluated in the OFT, elevated plus-maze test and social interaction test. Depressive behavior was assessed in the forced swim test. Thermal pain sensitivity was measured in the hot plate test.

Results: OVX rats showed increased anxiety, depressive behavior and pain sensitivity in comparison with SO animals. Compared to OVX rats, anxiety, depressive behavior, and pain sensitivity of AMFJ-treated animals were decreased. Locomotor activity of AMFJ-treated rats was reduced in comparison with both SO and OVX animals, probably due to the sedative effect of the juice.

Conclusions: AMFJ was able to antagonize the negative impact of the estrogen deficit on rat behavior (anxiety, depression, pain sensitivity), probably due to the biological activity of its polyphenolic ingredients.

Keywords: anxiety, *Aronia melanocarpa*, depression, ovariectomized rats, pain

Георгиева А, Тодорова М, Ефтимов М, Кузманов К, Вълчева-Кузманова С. Поведенчески ефекти на плодов сок от *Aronia melanocarpa* в модел на овариектомия-индуциран естрогенен дефицит при плъхове. Folia Medica 2022; 64(6):975-981.

Въведение: Овариектомията е често използван животински модел, уподобяващ промените в женския организъм в периода на менопауза. Плодовият сок от *Aronia melanocarpa* (ПСАМ) е изключително богат на полифенолни съединения (процианидини, флавоноиди и фенолни киселини).

Цел: Настоящото изследване има за цел да оцени ефектите на ПСАМ върху поведението в модел на овариектомия-индуциран естрогенен дефицит при плъхове.

Материали и методи: Бяха използвани четири групи женски плъхове порода Wistar, състоящи се от по 14 животни – фалшиво оперирани (ФО), овариектомирани (ОВ), ОВ+ПСАМ5 и ОВ+ПСАМ10. Третирането на животните започна 2 седмици след операцията и продължи 3 месеца. Групите ФО и ОВ получаваха дестилирана вода 10

ml/kg, а ОВ+ПСАМ5 и ОВ+ПСАМ10 – ПСАМ в дози съответно 5 ml/kg и 10 ml/kg. В края на периода бяха проведени поведенчески тестове. Двигателната активност беше оценена чрез тест открито поле (open field test). Тревожността беше оценена в OFT, тест повдигнат кръстосан лабиринт и тест за социално взаимодействие. Депресивното поведение беше изследвано в теста за принудително плуване. Чувствителността към болка беше оценена посредством тест гореща плоча.

Резултати: Овариектомираните плъхове демонстрират увеличена тревожност, депресивно поведение и свръхчувствителност към болка в сравнение с ФО. При животните, третирани с ПСАМ, се установиха намалена тревожност, депресивно поведение и намалена болкова чувствителност в сравнение с групата ОВ. Двигателната активност при плъховете, третирани с ПСАМ, беше намалена в сравнение с ФО и ОВ, вероятно поради седативен ефект.

Изводи: ПСАМ съумя да предотврати негативното въздействие на естрогенния дефицит върху поведението на плъховете (тревожност, депресия, болкова свръхчувствителност) вероятно посредством действието на полифенолните съединения в състава си.

Ключови думи: тревожност, *Aronia melanocarpa*, депресия, овариектомирани плъхове, болка

Г7.3. Georgieva A, Todorova M, Eftimov M, Kuzmanova V, Kuzmanov A, Kuzmanov K, Vlaskovska M, Valcheva-Kuzmanova S. Effects of chlorogenic acid on behavior and metabolism in ovariectomized rats. Farmacia 2022; 70(1):54-8.

The objective of the present study was to make a complex evaluation of the effect of chlorogenic acid (CGA) on behavior, lipid metabolism and bone mineral density (BMD) in an ovariectomized (OVX) rat model. Female Wistar rats were divided in 3 groups, each of 14 animals – sham operated (SO), OVX and the last group ovariectomized rats treated with CGA. Three months after the operation, rat behaviour was investigated in the open field test (OFT), elevated plus-maze test (EPM), social interaction test (SIT), forced swimming test (FST) and hot plate test (HPT). Weight gain, total and retroperitoneal fat deposits were measured, as well as serum concentrations of total cholesterol. Femur BMD was also evaluated. CGA managed to improve some of the negative consequences of the estrogen deficit (anxiety and depressive behavior, increased pain sensitivity and decreased BMD) and did not affect others (increased fat accumulation and elevated cholesterol levels).

Keywords: chlorogenic acid, ovariectomy, rats

Георгиева А, Тодорова М, Ефтимов М, Кузманова В, Кузманов А, Кузманов К, Власковска М, Вълчева-Кузманова С. Ефекти на хлорогенова киселина върху поведението и метаболизма при овариектомирани плъхове. *Farmacia* 2022; 70(1):54-8.

Целта на настоящото изследване е да се извърши комплексна оценка на ефекта на хлорогенова киселина (ХК) върху поведението, липидния метаболизъм и костната минерална плътност (КМП) в модел на овариектомия (ОВ) при плъхове. Женски плъхове порода Wistar бяха разделени в 3 групи по 14 животни – фалшиво оперирани (ФО), ОВ и ОВ, третирани с ХК. Три месеца след операцията поведението на животните беше изследвано посредством тест открито поле (open field test, OFT), тест повдигнат кръстосан лабиринт (elevated plus-maze test, EPM), тест за социално взаимодействие (social interaction test, SIT), принудително плуване (forced swim test, FST), и тест гореща плоча (hot plate test, HPT). Бяха измерени наддаването на тегло и теглата на общата и ретроперитонеална мастна тъкан, серумната концентрация на общ холестерол, както и костната минерална плътност (КМП) на бедрена кост. ХК съумя да подобри някои от негативните последици от естрогенния дефицит (тревожно и депресивно поведение, увеличена чувствителност към болка и намалена КМП), но не повлия на други (увеличено натрупване на мазнини и повишени нива на холестерол).

Ключови думи: хлорогенова киселина, овариектомия, плъхове

Г7.4. Georgieva A, Eftimov M, Todorova M, Kuzmanova V, Kuzmanov A, Kuzmanov K, Vlaskovska M, Valcheva-Kuzmanova S. Effects of ovariectomy-induced estrogen deficit on rat behavior, lipid metabolism, inflammation, bone mineral density and turnover. *Folia medica* 2021; 63(3):385-391.

Aim: The objective of the present study was to make a complex evaluation of behaviour, lipid metabolism, inflammation, and bone turnover in an ovariectomized rat model used to simulate postmenopausal clinical findings.

Materials and methods: Female Wistar rats were divided into 2 groups of 16 animals each: sham operated (SO) animals and ovariectomized (OVX) animals. Three months after the operation, a battery of behavioural tests was performed including an open field test (OFT), elevated plus-maze test (EPM), the social interaction test (SIT), the forced swim test (FST), and a hot plate test (HPT). At termination of experiment, weight gain and fat deposits (total and retroperitoneal) were measured. Serum concentrations of blood lipids were determined. Tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) and alkaline phosphatase (ALP) serum concentrations were used for evaluation of the inflammation and bone turnover, respectively. Femur bone mineral density (BMD) was evaluated using dual energy X-ray absorptiometry.

Results: OVX rats did not demonstrate any significant behavioural changes in OFT and EPM tests but showed a decreased interaction time in SIT and an increased immobility time in FST test which indicated anxiety and depression. The OVX rats had a significantly lower pain sensitivity threshold. They had greater weight gain, increased total and retroperitoneal fat deposits, as well

as elevated total fat/body weight and retroperitoneal fat/body weight ratios. Blood cholesterol, ALP and TNF-alpha of the OVX group were also significantly higher. Femur BMD of OVX rats was slightly but not significantly reduced.

Conclusions: Estrogen deficiency in OVX rats caused depression, anxiety, hyperalgesia, obesity, dyslipidemia, and inflammation before the reduction in bone mineral density was prominent.

Keywords: anxiety, depression, obesity, ovariectomy, rats

Георгиева А, Ефтимов М, Тодорова М, Кузманова В, Кузманов А, Кузманов К, Власковска М, Вълчева-Кузманова С. Ефекти на овариектомия-индуциран естрогенен дефицит при плъхове върху поведението, липидния метаболизъм, възпалението, костната минерална плътност и костната обмяна. *Folia medica* 2021; 63(3):385-391.

Цел: Целта на настоящото изследване е да се извърши комплексна оценка на поведението, липидния метаболизъм, възпалението и костната обмяна при овариектомирани плъхове, модел, използван за уподобяване на постменопаузалните клиничните промени.

Материали и методи: Женски плъхове порода Wistar бяха разделени в 2 групи по 16 животни: фалшиво оперирани (ФО) и овариектомирани (ОВ). Три месеца след операцията бяха проведени серия от поведенчески тестове – тест открито поле (open field test, OFT), тест повдигнат кръстосан лабиринт (elevated plus-maze test, EPM), тест за социално взаимодействие (social interaction test, SIT), принудително плуване (forced swim test, FST), и тест гореща плоча (hot plate test, HPT). След приключване на експеримента бяха измерени наддаването на тегло и теглата на общата и ретроперитонеална мастна тъкан, както и серумната концентрация на липиди. Нивата на tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) и алкална фосфатаза (ALP) бяха използвани съответно за оценка на възпалението и костния метаболизъм. Костната минерална плътност (КМП) беше измерена посредством двойноенергийна рентгенова абсорбциометрия.

Резултати: Овариектомираните плъхове не показаха значими поведенчески промени в тестовете OFT и EPM. Времето за социално взаимодействие в SIT беше скъсено, а времето на неподвижност в FST – удължено. Тези промени сочат развитие на тревожност и депресия. Овариектомираните плъхове показаха по-нисък праг на болката, по-голямо наддаване на тегло, повече обща и ретроперитонеална мастна тъкан, както и повишени индекси обща мастна тъкан/телесно тегло и ретроперитонеална мастна тъкан/телесно тегло. Серумните нива на холестерол, ALP и TNF-alpha ов тази група също бяха значимо повишени. КМП на бедрената кост беше леко намалена, без статистическа значимост.

Изводи: Естрогенният дефицит у овариектомираните плъхове доведе до депресия, тревожност, хипералгезия, затлъстяване, дислипидемия и възпаление, предхождащи значимите промени в КМП.

Ключови думи: тревожност, депресия, затлъстяване, овариектомия, плъхове

Г7.5. Valcheva-Kuzmanova S, Denev P, Eftimov M, Georgieva A, Kuzmanova V, Kuzmanov A, Kuzmanov K, Tzaneva M. Protective effect of *Aronia melanocarpa* juices either alone or combined with extracts from *Rosa canina* or *Alchemilla vulgaris* in a rat model of indomethacin-induced gastric ulcers. Food and chemical toxicology, 2019; 132:110739.

The aim of the study was to investigate the effects of four *Aronia melanocarpa*-based juices in a rat model of indomethacin-induced gastric ulceration.

The juices were: AM1 and AM2 (produced from aronia fruits at 20 °C and 60 °C, respectively), AMRC (a mixture of AM2 with *Rosa canina* extract) and AMAV (aronia juice with *Alchemilla vulgaris*). Male Wistar rats were used. Each of the juices (10 ml/kg) was administered for 10 days. Indomethacin (30 mg/kg) was injected subcutaneously and after 4 h, the effects were estimated.

Indomethacin caused heavy destructions of the gastric mucosa, increased the expression of Bax and decreased the expression of Bcl-2, induced a certain increase in lipid peroxidation and a slight decrease in gastric PGE2 content. The pretreatment with the juices reduced the severity of indomethacin-induced gastric lesions and antagonized the effects of indomethacin on apoptosis and lipid peroxidation. The highest was the protective effect of AMAV, the juice with the highest polyphenolic content.

The protective effect of *Aronia melanocarpa*-based juices against indomethacin-induced gastric lesions could be attributed to their polyphenolic contents. The mechanism involved to the highest extent in the protective effect of the juices was the inhibition of apoptosis.

Keywords: *Aronia melanocarpa* fruit juice, *Rosa canina*, *Alchemilla vulgaris*, Indomethacin, gastric ulceration, rats

Вълчева-Кузманова С, Денев П, Ефтимов М, Георгиева А, Кузманова В, Кузманов А, Кузманов К, Цанева М. Протективни ефекти на сокове от *Aronia melanocarpa*, използвана самостоятелно или в комбинация с екстракти от *Rosa canina* или *Alchemilla vulgaris* в модел на индометацин-индуцирана стомашна язва при плъхове. Food and chemical toxicology, 2019; 132:110739.

Целта на настоящото изследване е да се проучат ефектите на четири базирани на *Aronia melanocarpa* плодови сока в модел на индометацин-индуцирана стомашна язва при плъхове.

Бяха използвани следните сокове: AM1 и AM2 (произведени от плодове на арония съответно при 20 °C и 60 °C), AMRC (смес от AM2 и екстракт от *Rosa canina*) и AMAV (сок от арония с добавена *Alchemilla vulgaris*). Бяха използвани мъжки плъхове порода Wistar. Всеки от соковете беше приложен в доза 10 ml/kg в продължение на 10 дни. Indomethacin (30 mg/kg) беше инжектиран подкожно и след 4 h бяха изследвани промените.

Indomethacin предизвика тежка деструкция на стомашната мукоза, повиши експресията на Вах и понижи тази на Bcl-2, предизвика засилване на липидната пероксидация и слабо повишение на стомашните нива на PGE2. Претеретирането с плодовите сокове съумя да редуцира тежестта на предизвиканите от indomethacin стомашни язви и да предотврати апоптозата и липидната пероксидация. Най-силен беше протективният ефект при сока АМАV, при който се наблюдава и най-високото съдържание на полифеноли. Протективният ефект на плодови сокове, базирани на *Aronia melanocarpa*, срещу стомашни лезии, предизвикани от indomethacin вероятно се дължи на съдържанието на полифеноли. Вероятният механизъм, допринасящ в най-голяма степен за този ефект, е инхибиция на апоптозата.

Ключови думи: *Aronia melanocarpa* fruit juice, *Rosa canina*, *Alchemilla vulgaris*, Indomethacin, стомашна язва, плъхове

Г7.6. Valcheva-Kuzmanova S, Georgieva A, Eftimov M, Todorova M, Kuzmanova V, Kuzmanov A, Marchev S, Kuzmanov K, Vlaskovska M. Effects of polyphenol-rich *Aronia melanocarpa* fruit juice on bone mineral density and pain sensitivity threshold in ovariectomized rats. European Journal of Clinical Pharmacology 2019; 75:S72-3.

Introduction: Osteoporosis is a major disorder in menopause. Dietary interventions are an important tool for bone strengthening. *Aronia melanocarpa* fruit juice (AMFJ), a rich source of polyphenols, has been demonstrated to possess a potent antioxidant activity and important metabolic functions. The most popular model of osteoporosis/osteopenia is generated in rodents by ovariectomy. Pain hypersensitivity develops in ovariectomy-induced osteoporosis.

Objectives: The aim of the present study was to investigate the effects of AMFJ on pain sensitivity threshold and bone mineral density (BMD) in ovariectomized (OVX) rats.

Methods: Female Wistar rats were divided into 4 groups, each of 14 animals: SO (sham-operated), OVX, OVX+AMFJ5 and OVX+AMFJ10. Beginning 2 weeks after the operation, SO and OVX groups were treated daily orally with distilled water (10 ml/kg) while OVX+AMFJ5 and OVX+AMFJ10 rats received AMFJ at doses of 5 ml/kg and 10 ml/kg, respectively. The main polyphenolic substances in 1 ml AMFJ were: total phenolics (6.65 mg), total proanthocyanidins (3.93 mg), chlorogenic acid (0.69 mg) and neochlorogenic acid (0.84 mg). After 10 weeks of treatment, hot plate test was performed to assess thermal pain sensitivity. Femur BMD was measured by dual energy X-ray absorptiometry using a computer program for small subjects.

Results: In the hot plate test, the latency time of OVX rats was significantly shorter ($p<0.05$) than that of SO rats. Hot-plate latency periods of both OVX+AMFJ5 and OVX+AMFJ10 groups were not significantly different from SO latency time and were significantly longer ($p<0.001$) compared to the results of OVX rats. Three months after ovariectomy, the femur BMD of OVX group was reduced compared to SO group. AMFJ dose-dependently prevented bone loss. Thus, BMD of OVX+AMFJ10 rats was significantly higher ($p<0.05$) than that of OVX rats.

Summary/Conclusions: Treatment of OVX rats with AMFJ antagonized OVX-induced decrease in BMD and prevented osteoporotic hyperalgesia to heat. Therefore, AMFJ might be beneficial for postmenopausal osteoporosis prevention.

Вълчева-Кузманова С, Георгиева А, Ефтимов М, Тодорова М, Кузманова В, Кузманов А, Марчев С, Кузманов К, Власковска М. Ефекти на плодов сок от *Aronia melanocarpa*, богат на полифеноли, върху костната минерална плътност и болковия праг при овариектомирани плъхове. *European Journal of Clinical Pharmacology* 2019; 75:S72-3.

Въведение: Остеопорозата е често срещана в периода на менопаузата. Диетатата е от голямо значение за здравината костите. Плодовият сок от *Aronia melanocarpa* (ПСАМ) е богат на полифеноли и е демонстрирал антиоксидантна активност и благоприятни ефекти върху метаболизма. Овариектомията при плъхове е най-популярният модел на остеопороза/остеопения. При този модел се наблюдава и свръхчувствителност към болка.

Цел: Целта на настоящото изследване е да се изследват ефектите на ПСАМ върху прага на болката и костната минерална плътност (КМП) при овариектомирани (ОВ) плъхове.

Методи: Женски плъхове порода Wistar бяха разделени в 4 групи по 14 животни: ФО (фалшиво оперирани), ОВ, ОВ+ПСАМ5 и ОВ+ПСАМ10. Две седмици след операцията беше започнато третирането на животните, като групите ФО и ОВ получаваха дестилирана вода (10 ml/kg), а групите ОВ+ПСАМ5 и ОВ+ПСАМ10 получаваха ПСАМ в дози съответно 5 ml/kg и 10 ml/kg. Полифенолният състав на 1 ml от използвания ПСАМ е както следва: общи феноли 6.65 mg, общи проантоцианидини 3.93 mg, хлорогенова киселина 0.69 mg и неохлорогенова киселина 0.84 mg. След 10-седмично третиране беше проведен тест гореща плоча за оценка на прага на болката, предизвикана от топлина. КМП на бедрената кост беше измерена чрез двойноенергийна рентгенова абсорбциометрия и компютърна програма за малки обекти.

Резултати: Латентното време при ОВ плъховете в теста гореща плоча беше значимо скъсено ($p<0.05$) в сравнение с ФО. При групите ОВ+ПСАМ5 и ОВ+ПСАМ10 латентното време не се различаваше от това при ФО и беше значимо удължено ($p<0.001$) в сравнение с ОВ. Три месеца след овариектомията КМП в групата ОВ беше намалена в сравнение с ФО. ПСАМ доза-зависимо съумя да предотврати костната загуба, като КМП в групата ОВ+ПСАМ10 беше значимо увеличена ($p<0.05$) в сравнение с ОВ.

Заключение: Третирането на ОВ плъхове с ПСАМ предотврати предизвиканите от ОВ намаление на КМП и термална болкова свръхчувствителност. Следователно ПСАМ може да бъде полезен за предотвратяване на постменопаузална остеопороза.

Г7.7. Valcheva-Kuzmanova S, Todorova M, Georgieva A, Eftimov M, Kuzmanova V, Kuzmanov A, Kuzmanov K, Vlaskovska M. Behavioral effects of *Aronia melanocarpa* fruit juice in rats with ovariectomy-induced reduction of bone mineral density. *Osteoporosis International* 2019; 30:S483.

Objective: *Aronia melanocarpa* fruit juice (AMFJ), rich in polyphenols, possesses pronounced effects on central nervous system functions. This study aimed to investigate AMFJ effects on locomotor activity, anxiety and depressive behavior in rats with ovariectomy-induced reduction of BMD.

Methods: Female Wistar rats were divided into 4 groups: SO (sham-operated), OV (ovariectomized), OV+AMFJ5 and OV+AMFJ10. Beginning 2 weeks after the operation, rats were treated daily orally with distilled water (SO and OV groups) or with AMFJ at doses of 5 and 10 ml/kg (OV+AMFJ5 and OV+AMFJ10 groups, respectively). After 10 weeks, femur BMD was measured and animal behaviors were recorded in the open field test (OFT), social interaction (SI) test and forced swim test (FST).

Results: AMFJ dose-dependently antagonized OV-induced BMD reduction. In the OFT ovariectomy caused a slight reduction in locomotor activity. The horizontal movements of OV+AMFJ5 and OV+AMFJ10 groups were significantly lower ($p<0.01$) than those of SO and OV rats and the vertical movements of OV+AMFJ10 group were significantly lower ($p<0.05$) than those of SO group. This AMFJ-induced dose-dependent decrease in locomotion was probably due to a sedative effect. The SI time of OV rats was significantly decreased ($p<0.01$ vs. SO group) showing the development of an anxiety state. The SI time of OV+AMFJ5 rats was not significantly different than that of SO rats demonstrating an anti-anxiety effect of that AMFJ dose. The SI time of OV+AMFJ10 group was similar to that of OV group, probably affected by the higher reduction of locomotion by 10 ml/kg AMFJ. In the FST, the immobility time (IT) of OV group was significantly increased ($p<0.01$ vs. SO group) indicating the development of depression. The IT of OV+AMFJ5 group did not differ significantly from that of OV group. For OV+AMFJ10 group, the IT was significantly lower ($p<0.05$) than that of OV group, not significantly different from that of SO group, indicating an anti-depressive effect of that AMFJ dose.

Conclusions: AMFJ reduced the locomotor activity probably due to sedation, antagonized the ovariectomy-induced anxiety and depressive behavior in rats.

Acknowledgement: This research was funded by Science Fund of Medical University, Varna, Bulgaria.

Вълчева-Кузманова С, Тодорова М, Георгиева А, Ефтимов М, Кузманова В, Кузманов А, Кузманов К, Власковска М. Поведенчески ефекти на плодов сок от *Aronia melanocarpa* при плъхове с овариектомия-индуцирано намаление на костната минерална плътност. *Osteoporosis International* 2019; 30:S483.

Въведение: Плодовият сок от *Aronia melanocarpa* (ПСАМ), богат на полифеноли, е демонстрирал полезни ефекти върху функциите на централната нервна система. Настоящото изследване има за цел да изследва ефектите на ПСАМ върху двигателната активност, тревожното и депресивно поведение при плъхове с овариектомия-индуцирано намаление на костната минерална плътност (КМП).

Методи: Женски плъхове порода Wistar бяха разделени в 4 групи: ФО (фалшиво оперирани), ОВ (овариектомирани), ОВ+ПСАМ5 и ОВ+ПСАМ10. Две седмици след операцията започна ежедневно орално третиране на животните, което продължи 10 седмици. Групите ФО и ОВ получаваха дестилирана вода. Групите ОВ+ПСАМ5 и ОВ+ПСАМ10 получаваха ПСАМ в дози съответно 5 и 10 ml/kg. 10 седмици по-късно беше измерена КМП и бяха проведени следните поведенчески тестове – тест открито поле (open

field test, OFT), тетс социално взаимодействие (CB) и тетс принудително плуване (forced swim test, FST).

Резултати: ПСАМ съумя доза-зависимо да противодейства на предизвиканото от овариектомията намаление на КМП. В OFT овариектомията доведе до леко потискане на двигателната активност. Хоризонталните движения бяха значимо намалени в групите ОВ+ПСАМ5 и ОВ+ПСАМ10 ($p<0.01$) в сравнение с ФО и ОВ. Вертикалните движения при групата ОВ+ПСАМ10 бяха значимо намалени ($p<0.05$) в сравнение с ФО. Това доза-зависимо потискане на двигателната активност, предизвикано от ПСАМ, вероятно се дължи на седативен ефект. Времето за СВ при плъховете от групата ОВ беше значимо намалено ($p<0.01$ vs. ФО), което сочи развитие на тревожност. Времето за СВ при плъховете от група ОВ+ПСАМ5 не се различаваше от ФО, което предполага анксиолитичен ефект при тази доза ПСАМ. Времето за СВ при плъховете от група ОВ+ПСАМ10 беше подобно на ОВ, вероятно поради потискането на двигателната активност от тази доза. В теста FST времето за неподвижност (ВН) при групата ОВ беше значимо удължено ($p<0.01$ vs. ФО), което показва развитие на депресия. ВН в групата ОВ+ПСАМ5 не се различаваше съществено от ОВ. При групата ОВ+ПСАМ10 ВН беше значимо скъсено в сравнение с ОВ, без да се различава от това на ФО, сочещо антидепресивен ефект на тази доза ПСАМ.

Заключение: ПСАМ доведе до потискане на двигателната активност, вероятно поради седативен ефект, и съумя да противодейства на предизвиканите от овариектомията тревожност и депресия.

Благодарности: Това проучване е подкрепено от Фонд „Наука“ към Медицински университет - Варна, България.

Г7.8. Valcheva-Kuzmanova S, Kuzmanova V, Kuzmanov A, Eftimov M, Todorova M, Georgieva A, Kuzmanov K, Marchev S, Vlaskovska M. Effects of *Aronia melanocarpa* fruit juice on metabolic indices in a rat ovariectomy-induced model of bone loss. Osteoporosis International 2019; 30:S465.

Objective: Polyphenols are intensively studied because of their beneficial effects on human health. The aim of the study was to investigate the effects of polyphenol-rich *Aronia melanocarpa* fruit juice (AMFJ) on metabolic indices in a rat ovariectomy-induced model of bone loss.

Methods: Female Wistar rats were divided into 4 groups, each of 14 animals: SO (sham-operated), OV (ovariectomized), OV+AMFJ5 and OV+AMFJ10. Beginning 2 weeks after the operation, in the course of 10 weeks, the animals were treated daily orally. SO and OV groups received distilled water. OV+AMFJ5 and OV+AMFJ10 groups were respectively treated with AMFJ at doses of 5 and 10 ml/kg. Weight was measured throughout the experiment and weight gain was calculated. At the end of the experiment, femur BMD was evaluated by DXA, fat deposits (total, retroperitoneal and mesenteric) and blood lipids were measured.

Results: AMFJ dose-dependently antagonized OV-induced BMD reduction. Thus, in OV+AMFJ10 group the BMD was significantly higher ($p<0.05$) than that of OV group. OV rats

had a significantly higher ($p<0.05$) weight gain than SO rats. The total and retroperitoneal fat deposits of OV group were significantly higher ($p<0.01$) than those of SO group and the mesenteric fat was insignificantly increased. This accounted for significantly higher ratios of total fat/body weight ($p<0.05$) and retroperitoneal fat/body weight ($p<0.01$) of OV rats compared to SO rats. Blood cholesterol level of OV group was significantly higher ($p<0.05$) than that of SO group. AMFJ in the two doses could not counteract these effects of ovariectomy on metabolism. Thus the weight gain, total fat, retroperitoneal fat and the calculated ratios of total fat/body weight and retroperitoneal fat/body weight, as well as the blood cholesterol of OV+AMFJ5 and OV+AMFJ10 groups were significantly higher than those of SO group and were not significantly different from those of OV rats.

Conclusion: In a rat ovariectomy-induced model of bone loss, *Aronia melanocarpa* fruit juice antagonized the reduction of BMD but could not antagonize the effects of ovariectomy on lipid metabolism.

Acknowledgement: This research was funded by project 14016 of Science Fund of Medical University, Varna, Bulgaria.

Вълчева-Кузманова С, Кузманова В, Кузманов А, Ефтимов М, Тодорова М, Георгиева А, Кузманов К, Марчев С, Власковска М. Ефекти на плодов сок от *Aronia melanocarpa* върху метаболитните индекси в модел на овариектомия-индуцирана костна загуба при плъхове. *Osteoporosis International* 2019; 30:S465.

Въведение: Полифенолите са обект на интензивно проучване поради благоприятните си ефекти върху човешкото здраве. Целта на настоящото изследване е да се изследва ефектът на плодов сок от *Aronia melanocarpa* (ПСАМ) върху метаболитните показатели в модел на овариектомия-индуцирана костна загуба при плъхове.

Методи: Женски плъхове порода Wistar бяха разделени в 4 групи по 14 животни всяка: ФО (фалшиво оперирани), ОВ (овариектомирани), ОВ+ПСАМ5 и ОВ+ПСАМ10. Две седмици след операцията започна ежедневно орално третиране на животните, което продължи 10 седмици. Групите ФО и ОВ получаваха дестилирана вода. Групите ОВ+ПСАМ5 и ОВ+ПСАМ10 получаваха ПСАМ в дози съответно 5 и 10 ml/kg. Теглото на животните беше измервано многократно и беше изчислено наддаването на тегло. В края на експеримента бяха измерени костната минерална плътност (КМП) на бедрената кост посредством метода DXA, количеството на мастната тъкан (обща, ретроперитонеална и мезентериална) и нивата на липидите в серума.

Резултати: ПСАМ доза-зависимо съумя да противодейства на намалението на КМП, предизвикано от овариектомията. В групата ОВ+ПСАМ10 КМП беше значимо по-висока ($p<0.05$) от тази на ОВ животни. При ОВ плъхове се наблюдаваше значимо по-голямо ($p<0.05$) наддаване на тегло в сравнение с ФО. Общата и ретроперитонеална мастна тъкан при ОВ животни беше значимо повече ($p<0.01$) в сравнение с ФО, а мезентериалната мастна тъкан беше незначително повече. Тези изменения допринесоха за значимо увеличение на индексите обща мастна тъкан/телесно тегло ($p<0.05$) и ретроперитонеална мастна тъкан/телесно тегло ($p<0.01$) при ОВ плъхове в сравнение с ФО. В ОВ групата се

наблюдаваха и значимо по-високи нива на холестерол ($p<0.05$) в сравнение с ФО. ПСАМ и в двете използване дози не съумя да противодейства на неблагоприятните ефекти на овариектомията върху метаболизма. При това наддаването на тегло, общата и ретроперитонеалната мастна тъкан, индексите обща мастна тъкан/телесно тегло и ретроперитонеална мастна тъкан/телесно тегло, както и нивата на холестерол в групите, третирани с ПСАМ бяха значимо по-високи от тези на ФО и не бяха различни от тези на ОВ животни.

Заключение: В модел на овариектомия-индуцирана костна загуба при плъхове плодовият сок от *Aronia melanocarpa* противодейства на намалението на КМП, но не съумя да предотврати неблагоприятните ефекти върху метаболизма.

Благодарности: Това проучване е подкрепено чрез проект 14016 на Фонд „Наука“ към Медицински университет - Варна, България.

Г7.9. Valcheva-Kuzmanova S, Kuzmanov A, Kuzmanova V, Eftimov M, Georgieva A, Todorova M, Kuzmanov K, Marchev S, Vlaskovska M. Evaluation of lipid metabolism, inflammation and bone turnover in a rat model of ovariectomy-induced bone loss. Osteoporosis International 2019; 30:S501.

Objective: Ovariectomized (OVX) rat is an animal model which simulates the clinical findings in postmenopausal conditions.

The aim of the present study was to make a complex evaluation of lipid metabolism, inflammation and bone turnover in an ovariectomized (OVX) rat model of postmenopausal bone loss using anthropometric and biochemical indices.

Materials and Methods: Female Wistar rats were divided into 2 groups, each of 14 animals: SO (sham operated) and OVX. Three months after the operation, femur bone mineral density (BMD) was measured by dual energy X-ray absorptiometry using a computer program for small subjects. Weight was measured throughout the experiment and weight gain was calculated. At termination of the experiment, fat deposits (total, retroperitoneal and mesenteric) and blood lipids were measured. Inflammation was evaluated by serum concentrations of tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha). Serum alkaline phosphatase (ALP) was determined as a marker of bone turnover.

Results: Three months after ovariectomy, the femur BMD of OVX rats was reduced but not significantly. OVX rats had a significantly higher ($p<0.05$) weight gain (12.4%) than SO rats (3.9%). The total and retroperitoneal fat deposits of OVX group were significantly higher ($p<0.01$) than those of SO group while the mesenteric fat was also increased but not significantly. This accounted for significantly higher ratios of total fat/animal weight ($p<0.05$) and retroperitoneal fat/animal weight ($p<0.01$) of OVX rats compared to SO rats. Blood cholesterol level of OVX group was significantly higher ($p<0.05$) than that of SO group. The ALP concentration was significantly elevated ($p<0.05$) in OVX group showing an increased bone turnover. TNF-alpha was significantly higher ($p<0.05$ vs. SO) in the OVX group indicating the development of inflammation.

Conclusion: At the stage when the reduction in bone mineral density was not significant, estrogen deficiency in OVX rats caused a state of obesity, dyslipidemia and inflammation.

Acknowledgements: This research was funded by project 14016 of Science Fund of Medical University Prof. Dr. Paraskev Stoyanov, Varna, Bulgaria.

Вълчева-Кузманова С, Кузманов А, Кузманова В, Ефтимов М, Георгиева А, Тодорова М, Кузманов К, Марчев С, Власковска М. Оценка на липидния метаболизъм, възпалението и костната обмяна в модел на овариектомия-индуцирана костна загуба при плъхове. *Osteoporosis International* 2019; 30:S501.

Въведение: Овариектомията (ОВ) при плъхове е животински модел, наподобяващ клиничните находки в условия на менопауза.

Целта на настоящото изследване е да се извърши комплексна оценка на липидния метаболизъм, възпалението и костната обмяна в плъши модел на ОВ-индуцирана постменопаузална костна загуба посредством телесни и биохимични показатели.

Материали и методи: Женски плъхове от порода Wistar бяха разделени в две групи по 14 животни: ФО (фалшиво оперирани) и ОВ. Три месеца след операцията беше измерена костната минерална плътност (КМП) посредством двойно енергийна рентгенова абсорбциометрия и компютърна програма за малки обекти. По време на експеримента многократно беше измервано телесното тегло и беше изчислено наддаването. При приключването на експеримента бяха измерени теглата на общата, ретроперитонеалната и мезентериална мастна тъкан, както и кръвните нива на липиди. Възпалението бе оценено посредством серумната концентрация на TNF-alpha. Серумната алкална фосфатаза (ALP) бе определена като маркер на костната обмяна.

Резултати: Три месеца след операцията КМП на бедрената кост при ОВ животни беше намалена, но без статистическа значимост. При ОВ плъхове наддаването на тегло беше значимо по-голямо (12.4%; $p < 0.05$) в сравнение с ФО (3.9%). Общата и ретроперитонеална мастна тъкан при ОВ животни бяха значимо повече ($p < 0.01$) в сравнение с ФО, а мезентериалната мастна тъкан беше незначимо повече. Това доведе до значимо увеличени съотношения между обща мастна тъкан и телесно тегло ($p < 0.05$) и ретроперитонеална мастна тъкан и телесно тегло ($p < 0.01$) при ОВ плъхове. Серумните нива на холестерол в тази група също бяха значимо увеличени ($p < 0.05$), както и нивата на ALP ($p < 0.05$), индикатор за увеличена костна обмяна. Нивата на TNF-alpha също бяха значимо увеличени при ОВ животни ($p < 0.05$), демонстриращи развитието на възпалителен процес.

Заклучение: Естрогенният дефицит при ОВ води до затлъстяване, дислипидемия и възпаление, предшестващи наличието на значими промени в КМП.

Благодарности: Това проучване е подкрепено чрез проект 14016 на Фонд „Наука“ към Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна, България.

Г7.10. Kuzmanova V, Kuzmanov A, Georgieva A, Eftimov M, Todorova M, Kuzmanov K, Vlaskovska M, Valcheva-Kuzmanova S. Effects of chlorogenic acid on bone mineral density and pain sensitivity threshold in ovariectomized rats. Osteoporosis International 2018; 29:S338.

Objective: Chlorogenic acid (CGA), one of the most abundant polyphenols in human diet, found in high concentrations in coffee, has been demonstrated to possess a potent antioxidant activity, important metabolic functions and an analgesic effect in hyperalgesic conditions in neuropathic and inflammatory pain. The aim of the present study was to investigate the effects of CGA on weight gain, BMD and osteoporotic hyperalgesia in an ovariectomized (OVX) rat model of postmenopausal osteoporosis.

Methods: Female Wistar rats were divided into 3 groups, each of 14 animals: SO (sham-operated), OVX and OVX+CGA. The daily oral treatment started 2 weeks after the operation and lasted for 10 weeks. Groups SO and OVX were treated with distilled water (10 ml/kg). OVX+CGA group was treated with CGA (20 mg/kg as a 10 ml/kg solution). At the end of the treatment period, weight gain was calculated and femur BMD was measured by DXA using a computer program for small subjects. Hot plate test was performed to assess thermal pain sensitivity.

Results: OVX rats had a significantly higher ($p < 0.05$) weight gain than SO rats. The weight gain of OVX+CGA group was significantly lower ($p < 0.05$) than that of OVX group. Ovariectomy caused a reduction in femur BMD. BMD of OVX+CGA rats was significantly higher ($p < 0.05$) than that of OVX rats and did not differ from that of SO rats. In the hot plate test, the latent time of OVX rats was significantly shorter ($p < 0.05$) than that of SO rats. The latent time of OVX+CGA group was significantly longer ($p < 0.05$) than that of OVX rats and was not significantly different than that of SO group.

Conclusion: Treatment of OVX rats with CGA reduced body weight gain, antagonized the OVX-induced decrease in BMD and prevented osteoporotic hyperalgesia to heat. Therefore, CGA and CGA-rich diets might be beneficial for postmenopausal osteoporosis prevention.

Acknowledgment: This research was funded by project 14016 of Science Fund of Medical University Prof. Dr. Paraskev Stoyanov, Varna, Bulgaria.

Кузманова В, Кузманов А, Георгиева А, Ефтимов М, Тодорова М, Кузманов К, Власковска М, Вълчева-Кузманова С. Ефекти на хлорогенова киселина върху костната минерална плътност и прага на болка при овариектомирани плъхове. Osteoporosis International 2018; 29:S338.

Въведение: Хлорогенова киселина (ХК) е един от основните полифеноли в диетата и се намира във високи концентрации в кафето. ХК е денострирала мощна антиоксидантна активност, важни метаболитни функции, както и аналгетичен ефект в условия на невропатична и възпалителна болка. Целта на настоящото изследване е да се изследва ефектът на ХК върху телесното тегло, костната минерална плътност (КМП) и

остеопоротичната хипералгезия в овариектомия (ОВ)-индуциран модел на постменопаузална остеопороза.

Методи: Женски плъхове порода Wistar бяха разпределени в 3 групи по 14 животни: ФО (фалшиво оперирани), ОВ и ОВ+ХК. Всекидневното перорално третиране на животните започна 2 седмици след операцията и продължи 10 седмици. Групите ФО и ОВ бяха третирани с дестилирана вода (10 ml/kg). ОВ+ХК групата получаваше ХК (20 mg/kg като разтвор 10 ml/kg). В края на третирането беше изчислено наддаването на тегло и КМП на бедрената кост беше измерена чрез метода DXA посредством компютърна програма за малки обекти. За определяне на термалната болкова чувствителност беше използван тест гореща плоча.

Резултати: ОВ плъховете демонстрираха значимо по-голямо ($p < 0.05$) наддаване на тегло от ФО животни. Наддаването на тегло при ОВ+ХК групата беше значимо по-малко ($p < 0.05$) от ОВ. Овариектомията доведе до намаляване на КМП на бедрената кост. КМП на ОВ+ХК групата беше значимо по-висока ($p < 0.05$) от ОВ и не се различаваше от тази на ФО животни. В теста гореща плоча латентното време при ОВ животни беше значимо скъсено ($p < 0.05$) в сравнение с ФО. Латентното време на ОВ+ХК плъхове беше значимо удължено ($p < 0.05$) в сравнение с ОВ и не се различаваше от ФО плъхове.

Заключение: Третирането на ОВ плъхове с ХК съумя да редуцира наддаването на тегло, да противодейства на ОВ-индуцираното намаление на КМП и да предотврати остеопоротичната термална хипералгезия. Следователно, ХК и диети, богати на тази киселина, могат да бъдат полезни за предотвратяване на постменопаузалната остеопороза.

Благодарности: Това проучване е подкрепено чрез проект 14016 на Фонд „Наука“ към Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна, България.

Г7.11. Marchev S, Temelkova K, Todorova M, Eftimov M, Georgieva A, Kuzmanova V, Kuzmanov A, Bankova V, Surcheva S, Vlaskovska M, Valcheva-Kuzmanova S. Effects of antioxidants from *Aronia melanocarpa* and *Apium graveolens* on experimental model of osteoporosis. Osteoporosis International 2018; 29:S338-S338.

Objective: Treatment of osteoporosis remains a therapeutic challenge. Various mechanism-directed medicines have been introduced, bearing as well adverse effects. The aim of the present study was to use natural plant/fruit extracts as a part of everyday lifestyle to postpone the development of osteoporosis.

Methods: Female Wistar rats were used. Control animals were sham-operated and the rest were ovariectomized. After ovariectomy, rats were randomized and received for 12 weeks: distilled water, HPLC-standardized *Aronia melanocarpa* fruit juice (10 ml/kg) or *Apium graveolens* extract (equal to 2.4 mg/kg quercetin). Femur BMD was measured 3 months after ovariectomy by DXA (Hologic Discovery A, version 13.2:3), using a computer program for small subjects (Small Animal Rat WB). The heat pain sensitivity was measured by the hot plate test (Ugo Basile, Italy).

Results: The *in vivo* osteoporotic changes in femur appearing due to the continuous estrogen deficit (ED) in ovariectomized rats proved a reliable model of experimental

osteoporosis/osteopenia. The results showed that ED decreased BMD in femur by 11%. *Aronia melanocarpa* fruit juice treatment was able to counteract the osteoporotic changes. The BMD values in the group receiving *Aronia melanocarpa* fruit juice were 13% higher ($p < 0.05$) than the respective values of ovariectomized animals treated with distilled water. Similar was the effect of *Apium graveolens* extract treatment. Behavioral results showed that the nociceptive threshold in ovariectomized rats decreased by 13% measured by the hot plate test ($p < 0.05$ vs. the sham-operated animals). Treatment with *Aronia melanocarpa* or *Apium graveolens* prevented the pro-nociceptive effect of osteoporosis.

Conclusion: The results suggest that natural antioxidants from *Aronia melanocarpa* and *Apium graveolens* could be an alternative management for postponing postmenopausal osteopenia/osteoporosis.

Acknowledgements: This research was supported by Grant DDVU 02-75 of Ministry of Education, Youth and Science of Bulgaria and by project 14016 of Science Fund of Medical University Prof. Dr. Paraskev Stoyanov, Varna, Bulgaria.

Марчев С, Темелкова К, Тодорова М, Ефтимов М, Георгиева А, Кузманова В, Кузманов А, Банкова В, Сурчева С, Власковска М, Вълчева-Кузманова С. Ефекти на антиоксиданти от *Aronia melanocarpa* (черноплодна арония) и *Apium graveolens* (целина) в експериментален модел на остеопороза. *Osteoporosis International* 2018; 29:S338-S338.

Въведение: Лечението на остеопорозата представлява терапевтично предизвикателство. Използват се множество лекарства, насочени към патогенетичния механизъм на заболяването, но водещи и до странични ефекти. Целта на настоящото изследване е да използваме природни растителни/плодови екстракти, част от всекидневния начин на живот, за да отложим развитието на остеопороза.

Методи: Бяха използвани женски плъхове порода Wistar. Контролните животни бяха фалшиво оперирани, а останалите бяха подложени на овариектомия. Овариектомираните плъхове бяха разпределени в групи, получаващи в продължение на 12 седмици дестилирана вода, плодов сок от *Aronia melanocarpa*, стандартизиран чрез HPLC (10 ml/kg) или екстракт от целина (еквивалентен на 2.4 mg/kg кверцетин). Костната минерална плътност (КМП) на бедрената кост беше измерена 3 месеца след операцията посредством метода DXA (Hologic Discovery A, version 13.2:3), като използвахме компютърна програма за малки обекти (Small Animal Rat WB). Прагът на топлинно-предизвикана болка бе измерен чрез тест гореща плоча (Ugo Basile, Italy).

Резултати: Остеопоротичните изменения в бедрената кост *in vivo*, наблюдавани при овариектомираните плъхове вследствие на продължителния естрогенен дефицит (ЕД) потвърдиха надеждността на използвания модел на остеопороза/osteopenia. ЕД доведе до намаляване на КМП в бедрената кост с 11%. Третирането с плодов сок от *Aronia melanocarpa* съумя да противодейства на остеопоротичните изменения. Стойността на КМП в групата, третирана с плодов сок от *Aronia melanocarpa*, беше повишена с 13% ($p < 0.05$) в сравнение с тази на третираните с дестилирана вода плъхове. Подобни ефекти бяха наблюдавани и в групата, третирана с екстракт от целина. Резултатите от

поведенческият тест „гореща плоча“ показаха, че прагът на болка при овариетомизираните плъхове е намален с 13% спрямо фалшиво оперираните животни ($p < 0.05$). Третирането с *Aronia melanocarpa* и *Apium graveolens* съумя да предотврати про-ноцицептивния ефект на остеопорозата.

Изводи: Резултатите предполагат, че природни антиоксиданти от *Aronia melanocarpa* и *Apium graveolens* могат да се използват като алтернативно лечение за предотвратяване на постменопаузалната остеопороза/остеопения.

Благодарности: Това проучване е подкрепено чрез грант DDVU 02-75 на Министерство на образованието, младежта и науката на Република България и чрез проект 14016 на Фонд „Наука“ към Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна, България.

Г7.12. Valcheva-Kuzmanova S, Georgieva A, Belcheva I, Belcheva S, Tashev R. Investigation of the effects of chlorogenic acid, ferulic acid, gallic acid and quercetin on pain sensitivity threshold in rats. European Neuropsychopharmacology, 2016; 26(S2):S222.

Introduction: Chlorogenic acid (CGA), ferulic acid (FA) and gallic acid (GA) are abundant polyphenols in human diet. Quercetin (Q), one of the most widely distributed flavonoids in nature, has been studied for a wide range of activities. There are some data on the effects of CGA, FA and Q in painful conditions. CGA showed an analgesic effect in a model of carrageenin-induced rat paw inflammation [1]. CGA decreased the excitability of neurons in trigeminal hyperalgesic conditions in neuropathic and inflammatory pain [2]. Sodium ferulate reduced the thermal and mechanical hyperalgesia in chronic neuropathic pain injury [3]. Chronic administration of Q could increase the threshold of thermal nociception in diabetic rats [4]. There are no data on the effects of the three phenolic acids and Q on nociception in the absence of tissue injury.

Aim: The aim of this study was to investigate and compare the effects of CGA, FA, GA and Q on pain sensitivity threshold to mechanical pressure on uninflamed rat hind paw.

Methods: Male Wistar rats (200-250 g) were divided into 20 groups of 10 animals. Rats were treated orally in the course of 7, 14, 21 and 30 days. For each experimental period, there were 5 groups of animals: Control, CGA, FA, GA and Q. Control groups received saline (10 ml/kg) while the other groups were treated respectively with CGA, FA, GA and Q given at an equal dose of 20 mg/kg as a 10 ml/kg solution. After each treatment period, the paw pressure Randall-Selitto test was carried out using an analgesimeter (Ugo Basile). The analgesimeter applied increasing pressure to the rat paw. The pressure at which the rat pulled back its paw as a result of pain sensation was measured in arbitrary units. Results were analyzed by Student's t-test. GraphPad Prism statistical software was used.

Summary of results: For each treatment period, the pain threshold of the animals belonging to CGA, FA, GA and Q groups was compared to that of the respective control group. The tested substances for all treatment periods showed a tendency to elevate the pain threshold but the increase was not statistically significant. The effects of the four treatments did not significantly

differ from one another. The highest pain threshold elevation was induced after 7 days by GA and Q (7% vs. Control), after 14 days – by Q (3% vs. Control), after 21 days – by FA and GA (8% vs. Control), and after 30 days – by CGA and FA (7% vs. Control). As is obvious from these results, the prolongation of treatment from 7 to 30 days did not significantly affect the pain threshold elevation.

Conclusion: CGA, FA, GA and Q had no significant effects on pain sensitivity of the uninflamed rat paw. As the elevation in the reaction threshold to pressure of an uninflamed paw can be produced only by centrally acting drugs such as the opioid analgesics [5], the results from the experiment suggested that the investigated phenolic acids and Q showed no central opioid-like analgesic activity.

References

- [1] dos Santos, M.D., Almeida, M.C., Lopes, N.P., de Souza, G.E., 2006. Evaluation of the anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of the natural polyphenol chlorogenic acid. *Biol Pharm Bull* 29(11), 2236-2240.
- [2] Zhang, Y.-J., Lu, X.-W., Song, N., Kou, L., Wu, M.-K., Liu, F., Wang, H., Shen, J.-F., 2014. Chlorogenic acid alters the voltage-gated potassium channel currents of trigeminal ganglion neurons. *Int J Oral Sci* 6, 233-240.
- [3] Zhang, A., Gao, Y., Zhong, X., Xu, C., Li, G., Liu, S., Lin, J., Li, X., Zhang, Y., Liu, H., Linag, S., 2010. Effect of sodium ferulate on the hyperalgesia mediated by P2X3 receptor in the neuropathic pain rats. *Brain Res* 1313, 215-221.
- [4] Narenjkar, J., Roghani, M., Alambeygi, H., Sedaghati, F., 2011. The effect of the flavonoid quercetin on pain sensation in diabetic rats. *Basic Clin Neurosci* 2(3), 51-57.
- [5] Swingle, K.F., 1974. Evaluation of antiinflammatory activity, in: Scherrer R.A., Whitehouse, M.W., *Anti-inflammatory Agents Part II: Chemistry and Pharmacology*, Academic Press, New York, pp. 34-123.

Вълчева-Кузманова С, Георгиева А, Белчева И, Белчева С, Ташев Р. Изследване на ефектите на хлорогенова, ферулова, галова киселини и кверцетин върху болковия праг при плъхове. *European Neuropsychopharmacology*, 2016; 26(S2):S222.

Въведение: Хлорогенова киселина (ХК), ферулова киселина (ФК) и галова киселина (ГК) са полифеноли, широко разпространени в диетата. Кверцетин (Кв) е един от най-разпространените в природата флавоноиди и е изследван в множество модели на заболявания. Съществуват известни данни относно ефектите на ХК, ФК, ГК и Кв в модели на болка. ХК е показала аналгетичен ефект в модел на карагенан-индуциран оток на лапата при плъхове [1]. Тази киселина намалява възбудимостта на невроните в модели на тригеминална, невропатична и възпалителна болка [2]. Натриев ферулат е демонстрирал облекчаване на термичната и механична хипералгезия в модел на хронична невропатична болка [3]. Хроничното приложение на Кв е довело до повишаване на прага на термична болка при плъхове с диабет [4]. Не са известни ефектите на тези три фенолни киселини и Кв върху прага на болката в отсъствие на тъканно увреждане.

Цел: Целта на настоящото изследване е да проучи и сравни ефектите на ХК, ФК, ГК и Кв върху прага на механично предизвикана болка в невъзпалена задна плъща лапа.

Методи: Мъжки плъхове от порода Wistar (200-250 g) бяха разпределени в 20 групи по 10 животни (Групи – Контролна, ХК, ФК, ГК и Кв). Те бяха третирани в продължение

съответно на 7, 14, 21 или 30 дни. Контролните групи получаваха физиологичен разтвор в доза 10 ml/kg, а останалите бяха третирани съответно с ХК, ФК, ГК или Кв в еднаква доза от 20 mg/kg под формата на разтвор 10 ml/kg. След всеки период беше проведен теста на Randall-Selitto за механичен натиск на лапата посредством използване на аналгезиметър (Ugo Basile). При този тест се измерва налягането, при което плъхът отдръпва задната си лапа от апарата поради усещане за болка и резултатът се представя като условни единици. Статистическата обработка на резултатите е извършена посредством Student's t-test и GraphPad Prism статистически софтуер.

Резултати: Резултатите за болковия праг на третираните с ХК, ФК, ГК и Кв животни се сравняват с тези на контролната група за всеки от четирите периода на третиране. При всички периоди изследваните вещества показват тенденция за повишаване на прага на болката, но без да се достига статистическа значимост. Ефектите на четирите вещества също така не се различават значимо помежду си. Най-висок праг на болката е наблюдаван след 7-дневно приложение на ГК и Кв (със 7% спрямо контролната група), след 14-дневно третиране с Кв (с 3%), след 21-дневно приложение на ФК и ГК (с 8%), и след 30-дневно третиране с ФК и ГК (със 7%). Както е видно от тези резултати, по-голямата продължителност на третирането не увеличава положителните ефекти на веществата.

Заключение: ХК, ФК, Гк и Кв не показват значим ефект върху прага на механична болка при невъзпалена плъща лапа. Такова повишение би могло да бъде постигнато само при приложение на централно действащи вещества като опиоидните аналгетици [5], което предполага периферен механизъм на аналгетично действие на изследваните три фенолни киселини и Кв.

References

- [1] dos Santos, M.D., Almeida, M.C., Lopes, N.P., de Souza, G.E., 2006. Evaluation of the anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of the natural polyphenol chlorogenic acid. *Biol Pharm Bull* 29(11), 2236-2240.
- [2] Zhang, Y.-J., Lu, X.-W., Song, N., Kou, L., Wu, M.-K., Liu, F., Wang, H., Shen, J.-F., 2014. Chlorogenic acid alters the voltage-gated potassium channel currents of trigeminal ganglion neurons. *Int J Oral Sci* 6, 233-240.
- [3] Zhang, A., Gao, Y., Zhong, X., Xu, C., Li, G., Liu, S., Lin, J., Li, X., Zhang, Y., Liu, H., Linag, S., 2010. Effect of sodium ferulate on the hyperalgesia mediated by P2X3 receptor in the neuropathic pain rats. *Brain Res* 1313, 215-221.
- [4] Narenjkar, J., Roghani, M., Alambeygi, H., Sedaghati, F., 2011. The effect of the flavonoid quercetin on pain sensation in diabetic rats. *Basic Clin Neurosci* 2(3), 51-57.
- [5] Swingle, K.F., 1974. Evaluation of antiinflammatory activity, in: Scherrer R.A., Whitehouse, M.W., *Anti-inflammatory Agents Part II: Chemistry and Pharmacology*, Academic Press, New York, pp. 34-123.

Г7.13. Georgieva A, Belcheva I, Belcheva S, Tashev R, Valcheva-Kuzmanova S. Anxiolytic-like effect of gallic acid and quercetin in young/healthy rats. European Neuropsychopharmacology, 2016; 26(S2):S270-271.

Introduction: Some of the most widespread polyphenols in natural food sources are phenolic acids such as gallic acid and flavonoids such as quercetin. An anxiolytic-like effect of gallic acid was observed after a single intraperitoneal administration [1]. There are some data suggesting an anxiolytic-like effect of quercetin given as a single dose [2], and repeatedly at a high dose [3].

Aim: The aim of the present study was to investigate the effect of gallic acid and quercetin administered subchronically at equal low doses on anxiety in young/healthy rats.

Methods: Male Wistar rats (200–250 g) were used in the experiments. The treatment lasted for 7, 14, 21 or 30 days. For each treatment period, there were three groups receiving daily orally one of the following treatments: saline 10 ml/kg (controls), gallic acid (20 mg/kg as a 10 ml/kg solution) or quercetin (20 mg/kg as a 10 ml/kg solution). After each treatment period, animals were tested in the elevated plus-maze which is a common test for anxiety behavior in rodents. Its concept lies in the conflict between the natural fear of the animals from open areas and their curiosity to a novel environment [4]. The test was carried out on 12 different animal groups (3 kinds of treatment, 4 treatment durations) consisting of 10 rats each. The following indices were recorded during the 5-min test period: the number of entries into open arms and the time spent there, the number of entries into closed arms of the maze and the time spent there, the total number of arm entries, and the ratio of the number of entries into the open arms vs. total number of entries. The statistical analyses were performed by one-way ANOVA using GraphPad Prism statistical software.

Results: Applied for 7 days, gallic acid and quercetin had no significant effects on the recorded indices. The two kinds of treatment administered for 14, 21 and 30 days significantly increased the number of entries in the open arms of the plus-maze and prolonged the time spent there without a significant change in the total number of arm entries serving as a measure of the animal locomotor activity. After the same treatment periods, the two phenolic substances had no effect on the number of entries into the closed arms but significantly shortened the time spent there. When applied for 14 and 30 days, gallic acid and quercetin increased the ratio of open vs. total arm entries. The onset of the effects after 14 days might be explained with the cumulation of polyphenolic substances in the brain after a long-term consumption [5].

Conclusion: The increased number of entries into plus-maze open arms together with no change in the overall locomotor activity, as well as the increased open-arm time and the decreased closed-arm time suggest a comparable anxiolytic-like effect of the equal low doses of gallic acid and quercetin.

References

[1] Mansouri, M.T., Soltani, M., Naghizadeh, B., Farbood, Y., Mashak, A., Sarkaki, A., 2014. A possible mechanism for the anxiolytic-like effect of gallic acid in the rat elevated plus maze. *Pharmacol Biochem Behav* 117, 40–46.

- [2] Bhutada, P., Mundhada, Y., Bansod, K., Ubgade, A., Quazi, M., Umathe, S., Mundhada, D., 2010. Reversal by quercetin of corticotrophin releasing factor induced anxiety- and depression-like effect in mice. *Progr Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 34(6), 955–960.
- [3] Pripem, A., Watanatorn, J., Sutthiparinyanont, S., Phachonpai, W., Muchimapura, S., 2008. Anxiety and cognitive effects of quercetin liposomes in rats. *Nanomed Nanotechnol Biol Med* 4, 70–78.
- [4] Pellow, S., File, S., 1986. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: A novel test of anxiety in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 24(3), 525–529.
- [5] Willis, L.M., Shukitt-Hale, B., Joseph, J.A., 2009. Recent advances in berry supplementation and age-related cognitive decline. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 12(1), 91–94.

**Георгиева А, Белчева И, Белчева С, Ташев Р, Вълчева-Кузманова С.
Анксиолитично-подобен ефект на галова киселина и кверцетин при
млади/здрави плъхове. *European Neuropsychopharmacology*, 2016;
26(S2):S270-271.**

Въведение: Някои от най-разпространените полифеноли в диетата са фенолни киселини като галовата и флавоноиди като кверцетин. Наблюдаван е анксиолитичен ефект на галова киселина след еднократно интраперитонеално приложение [1]. Съществуват данни, предполагащи анксиолитично-подобен ефект на кверцетин след еднократно [2] и многократно приложение на високи дози [3].

Цел: Целта на настоящото изследване е да се проучи ефектите на галова киселина и кверцетин, приложени субхронично в равни ниски дози, върху тревожното поведение при млади/здрави плъхове.

Методи: В експеримента бяха използвани мъжки плъхове порода Wistar (200–250 g). Продължителността на третирането беше съответно 7, 14, 21 и 30 дни. За всеки период на третиране животните бяха разпределени в три групи, получаващи веднъж дневно следните вещества: физиологичен разтвор 10 ml/kg (контроли), галова киселина (20 mg/kg като разтвор 10 ml/kg) и кверцетин (20 mg/kg като разтвор 10 ml/kg). След всеки период поведението на животните беше изследвано в апарат повдигнат кръстосан лабиринт, често използван тест за тревожност при гризачите. В основата на този тест лежи конфликтът между естествения стремеж на гризачите да избягват отворени пространства и тяхното любопитство към нова среда [4]. Тестът беше проведен с 12 различни групи животни (3 различни вещества, 4 периода на третиране), състоящи се от по 10 животни. По време на 5-минутните тестови периоди бяха записвани следните показатели: брой навлизания в отворените рамена на лабиринта и време, прекарано там, брой навлизания в затворените рамена и време, прекарано там, общ брой навлизания в рамената, както и съотношението брой навлизания в отворените рамена към общ брой навлизания в рамената. Статистическият анализ на данните беше извършен чрез тест one-way ANOVA с помощта на GraphPad Prism статистически софтуер.

Резултати: След 7-дневно приложение галова киселина и кверцетин не показват значими ефекти върху изследваните показатели. След приложение за 14, 21 и 30 дни и двете изследвани вещества увеличават броя навлизания в отворените рамена на лабиринта и удължават времето, прекарано в тях, без да променят общия брой навлизания в рамената, служещ като мярка за общата двигателна активност. За същите периоди на третиране двете вещества не променят броя навлизания в затворените рамена на лабиринта, но значимо

скъсяват времето, прекарано в тях. След 14- и 30-дневно приложение и двете вещества увеличават съотношението между броя навлизания в отворените рамена и общия брой навлизания в рамената. Наблюдаваното начало на ефекта след 14 дни може да бъде обяснено с натрупването на полифеноли в мозъка след многократно приложение [5].

Заключение: Увеличеният брой навлизания в отворените рамена на лабиринта, не съпроводен от промяна в общата двигателна активност на животните, както и удълженото време, прекарано в отворените рамена и намаленото време в затворените рамена предполагат сравним анксиолитично-подобен ефект на еднакви ниски дози галова киселина и кверцетин.

References

- [1] Mansouri, M.T., Soltani, M., Naghizadeh, B., Farbood, Y., Mashak, A., Sarkaki, A., 2014. A possible mechanism for the anxiolytic-like effect of gallic acid in the rat elevated plus maze. *Pharmacol Biochem Behav* 117, 40–46.
- [2] Bhutada, P., Mundhada, Y., Bansod, K., Ubgade, A., Quazi, M., Umathe, S., Mundhadaa, D., 2010. Reversal by quercetin of corticotrophin releasing factor induced anxiety- and depression-like effect in mice. *Progr Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 34(6), 955–960.
- [3] Priprem, A., Watanatorn, J., Sutthiparinyanont, S., Phachonpai, W., Muchimapura, S., 2008. Anxiety and cognitive effects of quercetin liposomes in rats. *Nanomed Nanotechnol Biol Med* 4, 70–78.
- [4] Pellow, S., File, S., 1986. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: A novel test of anxiety in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 24(3), 525–529.
- [5] Willis, L.M., Shukitt-Hale, B., Joseph, J.A., 2009. Recent advances in berry supplementation and age-related cognitive decline. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 12(1), 91–94.

Г7.14. Georgieva A, Todorova K, Belcheva S, Tashev R, Valcheva-Kuzmanova S. Effects of gallic acid and quercetin on learning and memory processes in young/healthy rats. *European Neuropsychopharmacology*, 2015; 25:S340-S341.

Purpose: Some of the most widespread polyphenols in natural food sources are phenolic acids and flavonoids. The phenolic gallic acid and the flavonoid quercetin have been tested in different models of impaired memory [1,2]. Memory effects of quercetin were studied in healthy rodents but the results were contradictory [3,4]. The aim of the present study was to investigate the effect of equal doses of gallic acid and quercetin on learning and memory in young/healthy rats.

Methods: Male Wistar rats (200–250 g) were used in the experiments. They were divided into groups which received daily orally one of the following treatments: saline 10 ml/kg (controls), gallic acid (20 mg/kg as a 10 ml/kg solution) or quercetin (20 mg/kg as a 10 ml/kg solution). The treatment lasted 7, 14, 21 or 30 days. After each treatment period, learning and memory were assessed using the active avoidance test (shuttle box) and the passive avoidance test (step-through). Each test was carried out on 12 different animal groups (3 kinds of treatment, 4 treatment durations) which consisted of 10 rats for the shuttle box task and of 12 rats for the step-through task. In the active avoidance test, there were two learning sessions (on two consecutive days) and a retention test – 24 h after the second training session. Avoidance responses recorded during the learning sessions and in the retention test served as a measure of learning and memory performance. In the passive avoidance test, each rat underwent one acquisition trial and two

retention tests – 3 h and 24 h after it, respectively. The step-through latency was used as a criterion for memory retention. The statistical analyses were performed using Student's t-test.

Results: In the active avoidance test, gallic acid and quercetin applied for 7 days had no significant effects on the number of avoidances during the first and the second training sessions as well as during the retention test. The two kinds of treatment (gallic acid and quercetin) administered for 14, 21 and 30 days significantly increased the number of avoidances at the two training sessions and at the retention test. In the passive avoidance test, gallic acid and quercetin applied for 7 days did not affect the latency time at the retention tests. Gallic acid applied for 14 days significantly prolonged the latency time only at the second retention test while applied for 21 and 30 days, it prolonged the latency time at both retention tests. Animals treated with quercetin for 14, 21 and 30 days showed significantly prolonged latency time at the two retention tests. The onset of the effects in the two tasks after 14 days might be explained with the cumulation of polyphenolic substances in the brain following long-term consumption [5].

Conclusion: In this study gallic acid and quercetin administered subchronically at equal doses to rats had similar effects to improve learning processes and memory retention.

References

- [1] Korani, M.S., Farbood, Y., Sarkaki, A., Moghaddam, H.F., Mansouri, M.T., 2014 Protective effects of gallic acid against chronic cerebral hypoperfusion-induced cognitive deficit and brain oxidative damage in rats. *Eur J Pharmacol.* 733, 62-67.
 - [2] Sabogal-Guaqueta, A.M., Munoz-Manco, J.I., Ramirez-Pineda, J.R., Lamprea-Rodriguez, M., Osorio, E., Cardona-Gomez, G.P., 2015 The flavonoid quercetin ameliorates Alzheimer's disease pathology and protects cognitive and emotional function in aged triple transgenic Alzheimer's disease model mice. *Neuropharmacology.* 93, 134-145.
 - [3] Pripem, A., Watanatorn, J., Sutthiparinyanont, S., Phachonpai, W., Muchimapura, S., 2008 Anxiety and cognitive effects of quercetin liposomes in rats. *Nanomed Nanotechnol Biol Med.* 4, 70-78.
 - [4] Jung, W.Y., Park, S.J., Park, D.H., Kim, J.M., Kim, D.H., Ryu, J.H., 2010 Quercetin impairs learning and memory in normal mice via suppression of hippocampal phosphorylated cyclic AMP response element-binding protein expression. *Toxicol Lett.* 197, 97-105.
 - [5] Willis, L.M., Shukitt-Hale, B., Joseph, J.A., 2009 Recent advances in berry supplementation and age-related cognitive decline (Note). *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 12, 91-94.
- Georgieva A, Belcheva I, Belcheva S, Tashev R, Valcheva-Kuzmanova S. Anxiolytic-like effect of gallic acid and quercetin in young/healthy rats. *European Neuropsychopharmacology*, 2016; 26(S2):S270-271.

Георгиева А, Тодорова К, Белчева С, Ташев Р, Вълчева-Кузманова С.
Ефекти на галова киселина и кверцетин върху процесите на
запаметяване и обучение при млади/здрави плъхове. *European*
***Neuropsychopharmacology*, 2015; 25:S340-S341.**

Цел: Фенолните киселини и флавоноидите са най-разпространените класове полифеноли в растителните храни. Ефектите на галова киселина и на флавоноида кверцетин са изследвани в различни модели на паметови нарушения [1,2]. Ефектите на кверцетин върху паметта са изследвани и при здрави животни, но резултатите не са еднозначни [3,4]. Целта на настоящото изследване е да се ефекта на еднакви ниски дози галова киселина и кверцетин върху паметовите и обучителни процеси при млади/здрави плъхове.

Методи: В експериментите бяха използвани мъжки плъхове порода Wistar (200-250 g). Плъховете от контролните групи бяха третираны с физиологичен разтвор 10 ml/kg, а останалите – с галова киселина или кверцетин в доза 20 mg/kg под формата на разтвор 10 ml/kg в продължение на 7, 14, 21 или 30 дни. В края на всеки период паметовите и обучителни способности на животните бяха оценени чрез тестовете за активно (shuttle box) и пасивно избягване (step-through). Всеки тест беше проведен с 12 различни групи животни (3 вида третиране за 4 различни периода), състоящи се от 10 плъха за теста shuttle box task и 12 животни за step-through. При теста за активно избягване се провеждат две обучителни сесии в последователни дни, 24 часа след което следва теста за памет. Броят избягвания в тренировъчните сесии и в теста за памет служат като показател за паметта и обучението на животните. При теста за пасивно избягване всеки плъх е подложен на една тренировъчна сесия и два теста за памет – 3 h и 24 h по-късно. В този тест като критерий за запаметяване се отчита времето на престой на плъха в осветената камера на апарата. Статистическата обработка на данните е извършена чрез Student's t-test.

Резултати: След 7-дневно третиране галова киселина и кверцетин не показват значим ефект върху паметовите и обучителни процеси в теста за активно избягване. След 14, 21 и 30 дни и двата полифенола увеличават броя на избягванията в тренировъчните сесии и основния тест. Галова киселина и кверцетин не повлияват времето за престой в светлото помещение в теста за пасивно избягване след 7-дневно приложение. След 14-дневно третиране галова киселина удължава времето за престой само във втория тест за памет, а след 21- и 30-дневно приложение – и в двата теста. Кверцетин, приложен за 14, 21 и 30 дни удължава времето за престой и при двата теста за памет. Времето, необходимо за настъпване на положителните ефекти върху паметта може да бъде обосновано с натрупване на полифенолите в мозъка след (суб)хронично приложение [5].

Извод: Галова киселина и кверцетин, приложени в еднакви ниски дози, показват сходни положителни ефекти върху паметовите и обучителни процеси при млади/здрави плъхове.

Библиография

- [1] Korani, M.S., Farbood, Y., Sarkaki, A., Moghaddam, H.F., Mansouri, M.T., 2014 Protective effects of gallic acid against chronic cerebral hypoperfusion-induced cognitive deficit and brain oxidative damage in rats. *Eur J Pharmacol.* 733, 62-67.
- [2] Sabogal-Guaqueta, A.M., Munoz-Manco, J.I., Ramírez-Pineda, J.R., Lamprea-Rodriguez, M., Osorio, E., Cardona-Gomez, G.P., 2015 The flavonoid quercetin ameliorates Alzheimer's disease pathology and protects cognitive and emotional function in aged triple transgenic Alzheimer's disease model mice. *Neuropharmacology.* 93, 134-145.
- [3] Priprem, A., Watanatorn, J., Sutthiparinyanont, S., Phachonpai, W., Muchimapura, S., 2008 Anxiety and cognitive effects of quercetin liposomes in rats. *Nanomed Nanotechnol Biol Med.* 4, 70-78.
- [4] Jung, W.Y., Park, S.J., Park, D.H., Kim, J.M., Kim, D.H., Ryu, J.H., 2010 Quercetin impairs learning and memory in normal mice via suppression of hippocampal phosphorylated cyclic AMP response element-binding protein expression. *Toxicol Lett.* 197, 97-105.
- [5] Willis, L.M., Shukitt-Hale, B., Joseph, J.A., 2009 Recent advances in berry supplementation and age-related cognitive decline (Note). *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 12, 91-94.
- Georgieva A, Belcheva I, Belcheva S, Tashev R, Valcheva-Kuzmanova S. Anxiolytic-like effect of gallic acid and quercetin in young/healthy rats. *European Neuropsychopharmacology*, 2016; 26(S2):S270-271.

Г7.15. Eftimov M, Georgieva A, Pavlov D, Todorova M, Reysov M, Nikolova M, Stefanova N, Tsaneva M, Novakovic M, Tesevic V, Valcheva-Kuzmanova S. Ameliorative effects of the flavonoid fustin in a rat model of trinitrobenzensulfonic acid-induced colitis. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 2024; 1305:012018.

Trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis is a widely used animal model that mimics the signs and symptoms of inflammatory bowel disease. Fustin is a flavonoid found in *Cotinus coggygia*.

The aim of the present study was to investigate the effect of fustin isolated from *Cotinus coggygia* heartwood in a rat model of TNBS-induced colitis.

In this experiment, 30 male Wistar rats were used, allocated to three groups: Control, TNBS and TNBS+F10. Colitis was induced by rectal application of TNBS. After the induction of colitis, fustin at a dose of 10 mg/kg was administered orally to TNBS+F10 group in the course of 8 days. Severity of colitis, oxidative stress and inflammation were assessed by macroscopic, histopathological, immunohistochemical and biochemical analyses.

Rats from TNBS group demonstrated severe colonic damage. Fustin treatment ameliorated most of the macroscopic and some of the histopathological indices of colonic damage, and restored the activity of the endogenous antioxidant superoxide dismutase in tissue homogenate but did not affect the signs of inflammation measured by the activity of alkaline phosphatase in serum and tissue homogenate, as well as the expression of NF- κ B in the colon. In conclusion, the ameliorative effects of fustin in the experimental TNBS-induced colitis might be the result of its antioxidant properties.

Ефтимов М, Георгиева А, Павлов Д, Тодорова М, Рейзов М, Николова М, Стефанова Н, Цанева М, Новакович М, Тешевич В, Вълчева-Кузманова С. Протективни ефекти на флавоноида фустин в модел на колит при плъхове, индуциран чрез тринитробензен сулфонова киселина. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 2024; 1305:012018.

Колитът, индуциран чрез приложение на тринитробензен сулфонова киселина (TNBS)-е широко използван животински модел, наподобяващ измененията и симптомите, наблюдавани при възпалителните чревни заболявания. Фустинът е флавоноид, намиращ се в растението смрадлика (*Cotinus coggygia*).

Целта на настоящото изследване е да се проучи ефекта на фустин, изолиран от дървесина на смрадлика, в модел на TNBS-индуциран колит при плъхове.

В хода на експеримента 30 мъжки плъха от порода Wistar бяха разпределени в три групи: Контрола, TNBS и TNBS+F10. Колитът беше индуциран посредством ректално приложение на TNBS, след което на животните от групата TNBS+F10 беше прилаган фустин ежедневно орално в продължение на 8 дни. Тежестта на колита, оксидативният

стрес и възпалението бяха оценени посредством макроскопски, хистопатологични, имунохистохимични и биохимични методи.

При плъховете от група TNBS се установи тежко увреждане на колона. Третирането с фустин съумя да подобри повечето макроскопски и някои хистологични маркери за увреждане и да възстанови нивата на ендогенния антиоксидант супероксид дисмутаза в тъканен хомогенат. Възпалението, оценено чрез измерване на нивата на алкална фосфатаза в серум и тъканен хомогенат, както и чрез експресията на NF-κB в колона, не беше повлияно. В заключение, наблюдаваните протективни ефекти на фустин в модел на TNBS-индуциран колит вероятно се дължат на неговите антиоксидантни свойства.

Г7.16. Salbashian M, Stefanova N, Tzaneva M, Pavlov D, Novakovic M, Tesevic V, Georgieva A, Eftimov M, Reysov M, Nikolova M, Valcheva-Kuzmanova S. Hepatoprotective effect of the flavonoid fustin in a rat model of paracetamol-induced acute liver damage. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 2024; 1305:012017.

Paracetamol (PCM)-induced toxicity is a well-established pharmacological model. *Cotinus coggygria* is a medicinal plant rich in polyphenols, including the flavonoid fustin. The aim of the present study was to evaluate the effects of the flavonoid fustin isolated from *Cotinus coggygria* heartwood in a model of PCM-induced liver damage. Male Wistar rats (n=48) were allocated to four groups: Control, PCM, F5+PCM, F10+PCM. The rodents were treated daily orally for nine consecutive days as follows: groups F5+PCM and F10+PCM – with fustin (suspended in a vehicle) at doses of 5 and 10 mg/kg, respectively; groups Control and PCM – with the vehicle. PCM was injected intraperitoneally (1.0 g/kg) on day 7. At the end of the experiment, serum and liver samples were prepared. PCM caused a severe liver damage confirmed by histopathological, immunohistochemical and biochemical indices. Compared to PCM group, in F5+PCM and F10+PCM groups, the hepatic necrosis, steatosis, ballooning degeneration, inflammation and expression of NF-κB were significantly reduced. Fustin treatment resulted in a significant reduction of serum activities of alanine aminotransferase and gamma-glutamyl transferase to levels that did not differ from the control values. The present study demonstrated a hepatoprotective effect of the flavonoid fustin in a rat model of acute paracetamol-induced toxicity.

Салбашиян М, Стефанова Н, Цанева М, Павлов Д, Новакович М, Тешевич В, Георгиева А, Ефтимов М, Рейзов М, Николова М, Вълчева-Кузманова С. Хепатопротективен ефект на флавоноида фустин в модел на парацетамол-индуцирано остро чернодробно увреждане при плъхове. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 2024; 1305:012017.

Парацетамол (PCM)-индуцираната хепатотоксичност е широко използван фармакологичен модел. Смордлика (*Cotinus coggygria*) е лечебно растение, богато на полифеноли,

включително флавоноида фустин. Целта на настоящото изследване е да се оценят ефектите на флавоноида фустин, изолиран от дървесина на смрадлика, в модел на РСМ-индуцирано чернодробно увреждане. За целта мъжки плъхове порода Wistar (n=48) бяха разпределени в следните 4 групи: Контрола, РСМ, F5+РСМ, F10+РСМ. Гризачите бяха третираны ежедневно орално в продължение на 9 дни по следния начин: групи F5+РСМ и F10+РСМ – с фустин (под формата на суспензия) в дози съответно 5 и 10 mg/kg; групи Контрола и РСМ – с дисперсната фаза. РСМ беше инжектиран интраперитонеално (1.0 g/kg) на 7ми ден от експеримента. В края на третирането бяха приготвени проби от серум и черен дроб. РСМ предизвика тежко чернодробно увреждане, потвърдено чрез хистопатологични, имунохистохимични и биохимични методи. В сравнение с група РСМ, в групите F5+РСМ и F10+РСМ се наблюдават значимо редуцирани чернодробна некроза, стеатоза, балонна дегенерация, възпаление и експресия на NF-κB. Третирането с фустин доведе и до значимо намаление на серумната активност на аланин аминотрансфераза и гама-глутамил трансфераза до нива, подобни на тези в контролната група. В заключение, настоящото изследване разкрива хепатопротективен ефект на флавоноида фустин в модел на остра парацетамол-индуцирана токсичност при плъхове.

Г8.1. Georgieva A. Potential health benefits of the plant *Levisticum officinale* (lovage) in relation to its polyphenolic content. Acta Scientifica Naturalis 2023; 10(1):16-36.

The purpose of the present study was to gather information about the effects of the herb *Levisticum officinale* (lovage) and of its phenolic ingredients and to elucidate the potential health benefits of the plant in relation to its polyphenolic content. The study was performed by searching different internet-based databases (Google Scholar, ScienceDirect, PubMed, etc.). *Levisticum officinale* (lovage) is a perennial aromatic plant from the Apiaceae family. This herb is rich in essential oil and is widely used as a seasoning for culinary purposes. Lovage contains up to 860 mg GAE/100 g fresh weight phenolic substances as well. Polyphenols in *L. officinale* belong to the classes of flavonoids (quercetin, rutin, kaempferol and anthocyanins) and phenolic acids (chlorogenic, neochlorogenic, ferulic, gallic, ellagic). They contribute to potent antioxidant properties of the plant. Anti-inflammatory, anticancer, neuroprotective, antidiabetic, antibacterial, hepatoprotective and other properties of *L. officinale* extracts have also been demonstrated. Phenolic substances abundant in lovage have shown to be protective in models of osteoporosis and different cardiovascular diseases as well.

The information confirms our assumption that *Levisticum officinale* is not only an useful and pleasant-tasting Mediterranean-cuisine seasoning but also a herb that can contribute to the healthy lifestyle.

Keywords: *Levisticum officinale*, polyphenols, flavonoids, phenolic acids

Георгиева А. Потенциални здравни ползи на *Levisticum officinale* (девесил) във връзка със съдържанието на полифеноли. *Acta Scientifica Naturalis* 2023; 10(1):16-36.

Целта на настоящото изследване е да обобщим наличната информация за ефектите на билката/подправка *Levisticum officinale* (девесил) и на съдържащите се в нея полифеноли и да оценим потенциалните здравни ползи на растението във връзка с полифенолното му съдържание. Проучването беше проведено посредством търсене в различни бази данни в Интернет като Google Scholar, ScienceDirect, PubMed и др.

Levisticum officinale (девесил) е многогодишно ароматно растение от семейство Apiaceae. То е богато на етерично масло и се използва като подправка в кулинарията. В девесила се съдържат и фенолни съединения в концентрация до 860 mg GAE/100 g свежо тегло.

Полифенолите в *L. officinale* принадлежат към класовете флавоноиди (кверцетин, рутин, кемпферол и антоцианини) и фенолни киселини (хлорогенова, неохлорогенова, ферулова, галова, елагова). Те допринасят за силните антиоксидантни свойства на растението. Други наблюдавани ефекти на девесил включват противовъзпалителен, противораков, невропротективен, антидиабетен, антибактериален, хепатопротективен и др. Фенолните съединения в състава на растението са показали протективни ефекти и в модели на остеопороза и сърдечно-съдови заболявания.

Наличната информация потвърждава нашето предположение, че *Levisticum officinale* е не само полезна и вкусна подправка, използвана в Средиземноморската кухня, но и билка, която може да допринесе за здравословния начин на живот.

Ключови думи: *Levisticum officinale*, полифеноли, флавоноиди, фенолни киселини

Г8.2. Eftimov M, Georgieva A, Valcheva-Kuzmanova S. Drug-induced hyperglycemia. *Varna Medical Forum* 2021; 10(2):164-171.

Drug-induced hyperglycemia is a clinically relevant condition which is often underestimated. At the same time, it is frequent because many of the widely used drugs may cause it. High blood sugar levels may damage blood vessels and many organs.

The aim of this review was to summarize the available literature data regarding the hyperglycemic effect of the most widely used drug groups. Our survey was performed by searching different web-based databases—Google Scholar, PubMed, etc.

We found that the main drug groups, which are involved in cases of hyperglycemia and induction of diabetes are: some hormonal drugs, immunosuppressants, drugs affecting cardiovascular system and central neural system (CNS), antimicrobials and antiasthmatic drugs. Among the hormonal drugs, the most diabetogenic ones appear to be gonadotropin-releasing hormone agonists and glucocorticosteroids. Among the drugs affecting the cardiovascular system, thiazide diuretics, some beta blockers and powerful statins are worth mentioning. From drugs affecting the CNS, antipsychotics are distinguished with the highest risk of hyperglycemia. The most diabetogenic antimicrobial drugs belong to the groups of antiretroviral (nucleoside analogs and protease inhibitors) and fluoroquinolones. Beta-2 agonists are the most common hyperglycemic drugs in the antiasthmatic group. The hyperglycemia induced by all these drugs may be due to

different mechanisms – decreased insulin secretion and induction of insulin resistance, stimulation of glycogenolysis and gluconeogenesis in the liver and muscles, etc. Measures taken to overcome drug-induced hyperglycemia include prescribing medicines at the lowest risk of causing abnormalities in blood sugar levels, monitoring therapy, use of antidiabetic drugs such as metformin, and in severe hyperglycemia – even insulin. In conclusion, drug-induced hyperglycemia is a common problem in clinical practice. Measures are needed to increase the awareness among physicians about this adverse drug reaction and the ways to avoid and control it.

Keywords: hyperglycemia, drugs

Ефтимов М, Георгиева А, Вълчева-Кузманова С. Лекарствено-индуцирана хипергликемия. Варненски медицински форум 2021; 10(2):164-171.

Лекарствено-индуцираната хипергликемия е клинично значим проблем, който е подценяван, но често срещан при множество от широко използваните лекарства. Повишените нива на кръвната захар могат да причинят увреждане на кръвоносните съдове и органите.

Целта на настоящия обзор е да обобщи наличните литературни данни по отношение на хипергликемичния ефект на най-често използваните лекарствени групи. Проучването беше проведено чрез търсене на информация в различни web базирани бази данни – Google Scholar, Pub Med и др.

Нашето проучване показва, че основните класове лекарства, асоциирани с хипергликемия и развитие на диабет, са: някои хормонални лекарства, имunosупресори, лекарства, повлияващи сърдечно-съдовата система и централната нервна система (ЦНС), противомикробни и антиастматични. Сред хормоналните лекарства най-силно диабетогенни се оказват агонистите на гонадотропин-освобождаващия хормон и глюкокортикостероидите. Сред лекарствата, повлияващи сърдечно-съдовата система, се открояват тиазидните диуретици, някои бета-блокери и мощните статини. От повлияващите ЦНС с най-висок риск от хипергликемия се отличават антипсихотичните лекарства. Сред противомикробните лекарства най-силно диабетогенни са антиретровирусните нуклеозидни аналози и протеазни инхибитори, както и флуорираните хинолони, а сред антиастматичните – бета-2 агонистите.

Хипергликемичният ефект на тези лекарства се обуславя от различни механизми – намалена секреция на инсулин, индуциране на инсулинова резистентност, стимулиране на гликогенолизата и глюконеогенезата в мускулите и черния дроб и др.

Мерките, прилагани за преодоляване на лекарствено-индуцираната хипергликемия, включват изписване на лекарства с най-малък риск да предизвикат нарушения в кръвнозахарните нива, мониторинг на терапията, използването на антидиабетични лекарства като metformin, а при тежка хипергликемия – дори инсулин. В заключение, лекарствено-индуцираната хипергликемия е често срещан проблем в лечебната практика и са необходими мерки за повишаване на информираността за тази нежелана лекарствена реакция, начините за избягването и контролирането ѝ.

Ключови думи: хипергликемия, лекарства

Г8.3. Todorova M, Georgieva A, Valcheva-Kuzmanova S. Behavioral changes in experimental models of estrogen deficiency. Varna Medical Forum 2021; 10(2):172-180.

Estrogen hormones play an important regulatory role in the human body. They contribute to sexual differentiation, reproductive function and behavior, as well as to memory, neuronal survival, homeostasis and metabolic rate. The menopausal period in a woman's life is accompanied by changes associated with decreased levels of gonadal hormones. Decreased estrogen levels are considered to be one of the potential factors in the pathogenesis of affective disorders and cognitive dysfunctions. This review summarizes the available literature data on behavioral changes in animals with ovariectomy-induced estrogen deficit.

Keywords: estrogen deficiency, behavior, animals

Тодорова М, Георгиева А, Вълчева-Кузманова С. Поведенчески нарушения в експериментални модели на естрогенен дефицит. Варненски медицински форум 2021; 10(2):172-180.

Естрогенните хормони играят важна регулаторна роля в човешкия организъм. Те допринасят за сексуалната диференциация, репродуктивната физиология и поведение, както и за паметта, оцеляването на невроните, хомеостазата и метаболизма. Менопаузалният период от живота на жената е придружен от промени, свързани с намалени нива на гонадните хормони. Спадът в нивото на естрогените се счита за един от потенциалните фактори в патогенезата на афективните нарушения и когнитивни дисфункции. Настоящият обзор има за цел да обобщи наличните литературни данни за поведенческите нарушения при животни с овариектомия-индуциран естрогенен дефицит.

Ключови думи: естрогенен дефицит, поведение, животни

Г8.4. Georgieva A, Valcheva-Kuzmanova S. Polyphenols and osteoporosis. Nauka farmakologiya 2020; 2:30-34.

Osteoporosis and osteopenia are extremely important for the modern society. Their prevention and treatment require continuous search for new methods and remedies. Polyphenols, natural compounds with a great potential for treatment of various diseases, attract a lot of interest in the scientific community. This review summarizes the available literature data on the effects of polyphenols in osteoporosis/osteopenia obtained from studies *in vitro* in cell cultures as well as *in vivo* in experimental models and clinical trials.

Keywords: osteoporosis, osteopenia, polyphenols

Георгиева А, Вълчева-Кузманова С. Полифеноли и остеопороза. Наука фармакология 2020; 2:30-34.

Остеопорозата и остеопенията са състояния с изключителна значимост за съвременното общество. Това налага непрекъснато търсене на нови методи и средства за тяхното предотвратяване и лечение. Полифенолите, съединения от природен произход с голям потенциал за лечение на различни заболявания, все по-често предизвикват интереса на научната общност. Настоящият обзор обобщава наличните литературни данни за ефекта на полифеноли при остеопороза/остеопения получени *in vitro* в клетъчни култури и *in vivo* в експериментални модели и клинични проучвания.

Ключови думи: остеопороза, остеопения, полифеноли

Г8.5. Ефтимов М, Георгиева А, Тодорова М, Вълчева-Кузманова С. Изследване на ефектите на плодов сок от *Aronia melanocarpa* и хлорогенова киселина върху двигателната активност на плъхове в следродилния период. Collection of articles from the National Scientific Conference “15 Years of Pharmacy in Medical University – Plovdiv” 2018: 135-138.

Мозъкът на жената претърпява забележителни физиологични и поведенчески промени по време на следродилния период. Плодовият сок от *Aronia melanocarpa* (ПСАМ) и съдържащата се в него хлорогенова киселина (ХК) са с доказани ефекти върху функциите на централната нервна система. Целта на настоящото проучване е да се изследват ефектите на ПСАМ и ХК, прилагани по време на бременността, върху двигателната активност на плъхове в следродилния период.

Женски Wistar плъхове (n=25) са разделени в 5 групи: Контрола; Родилки (Р); Р+ПСАМ5, Р+ПСАМ10 и Р+ХК. Всички групи, с изключение на Контрола, са заплодени. Между 14и и 20и гестационен ден плъховете са третирани веднъж дневно, орално, както следва: групи Контрола и Р – с дестилирана вода (10 ml/kg), Р+ПСАМ5 и Р+ПСАМ10 – с ПСАМ (респективно 5 и 10 ml/kg) и Р+ХК – с ХК (20 mg/kg). На втория ден след раждането е проведен тест открито поле за оценяване на двигателната активност на животните.

Както хоризонталната, така и вертикалната двигателна активност на група Р е значимо по ниска, в сравнение с тази на Контролата ($p<0.05$). Броят на хоризонталните и вертикалните движения на животните от групи Р+ПСАМ5, Р+ПСАМ10 и Р+ХК не е значимо различен от тези на група Контрола. Резултатите показват, че плъховете в следродилния период проявяват намалена двигателна активност в тест открито поле, което вероятно е резултат от повишена емоционалност или тревожност, свързана с редуцирано изследователско поведение. ПСАМ и ХК противодействат на това състояние, вероятно благодарение на тяхната анксиолитично-подобна активност.

Благодарности: Изследването е субсидирано от фонд „Наука“ – МУ-Варна, 2014 г.

Eftimov M, Georgieva A, Todorova M, Valcheva-Kuzmanowa S. Investigation of the effects of *Aronia melanocarpa* fruit juice and chlorogenic acid on the locomotor activity in postpartum rats. Collection of articles from the National Scientific Conference “15 Years of Pharmacy in Medical University – Plovdiv” 2018: 135-138.

The female brain undergoes astonishing physiological and behavioral changes during the postpartum period. *Aronia melanocarpa* fruit juice (AMFJ) and its component chlorogenic acid (CGA) had demonstrated diverse positive effects on central-nervous-system functions. The aim of the present study was to investigate the effects of AMFJ and CGA applied during the gestational period on the locomotor activity of rats during the postpartum period.

Female Wistar rats (n=25) were allocated to 5 groups: Control; Postpartum (P); P+AMFJ5, P+AMFJ10 and P+CGA. All groups except for Controls were fertilized. Between the 14th and the 20th day of gestation rats were treated daily orally as follows: Control and P – with distilled water (10 ml/kg), P+AMFJ5 and P+AMFJ10 – with AMFJ (5 and 10 ml/kg, respectively) and P+CGA – with CGA (20 mg/kg). On the second postpartum day, open field test was performed to assess rodent locomotor activity.

The number of horizontal, as well as of the vertical movements of group P were significantly decreased in comparison with Controls ($p < 0.05$). The number of horizontal and vertical movements of animals in the groups P+AMFJ5, P+AMFJ10 and P+CGA was not different than that of Controls. The results indicate that the postpartum rats demonstrate decreased locomotor activity in the open field test probably due to increased emotionality or anxiety leading to a suppression of exploratory behavior. AMFJ and CGA counteract this state, probably because of their anxiolytic-like activity.

Acknowledgements: This investigation was funded by Science Fund, MU-Varna, 2014.