



Резюме на проект по Фонд „Наука“ № 24007 – Извънредна конкурсна сесия 2024:

„Биомаркери за оценка на възпалителния отговор, оксидативния стрес и дислипидемията при пациенти с остър исхемичен инсулт – ефект на възстановяващата терапия с хранителна добавка, съдържаща цитиколин и растителни екстракти“

Ръководител: Доц. д-р Милка Аспарухова Нашар, дб

Цел на проектното предложение е проучване ролята на молекулни биомаркери за оксидативен стрес, дислипидемия и възпаление при пациенти с остър исхемичен инсулт и ефекта на възстановяващата терапия с хранителната добавка Цитодеокс, съдържаща цитиколин и екстракти от арония, зелен чай и шипка.

Обект на изследването ще бъдат предварително събрани и надеждно съхранени (при -80°C) проби кръвен серум и изолирана РНК от лимфоцити на болни с остър исхемичен инсулт по действащ научен проект (проект № 21015), финансиран от Фонд „Наука“, за който е получено одобрение от КЕНИ (протокол № 119/ 21.07.2022 г.), като в подписаното от всеки участник информирано съгласие изрично е указано, че пробите ще бъдат съхранявани при подходящи условия за бъдещи научни изследвания. Предвижда се да бъдат анализирани събраните и съхранени проби на 100 болни с остър исхемичен инсулт преди и след суплементиране с Цитодеокс.

Ще бъде приложена иновативна и оригинална комбинация от **методи**:

1. Клинични – оценка хода на заболяването и тежестта на нарушенията, както и подгрупиране по съдова територия на инсульта, съпътстващи заболявания, прием на лекарства;
2. Имунохимични – определяне на 8-iPGF2-алфа;
3. Хроматографски – определяне на витамин Д статус;
4. Спектрофотометрични – оценка на показатели за оксидативен стрес;
5. Молекулярно-биологични – изследване експресия на специфични за заболяването цитокини и ензими.

Изследователски задачи:

1. Определяне нивата на малко изследвани молекулни биомаркери за оксидативен стрес (8-iPGF2-алфа, МДА, серумни тиоли), витамин Д статус (25-хидрокси витамин Д3) и експресията на ензимът отговорен за освобождаването на АК, ФЛА2 при пациенти с остър исхемичен инсулт;
2. Оценка на експресионните нива на про-инфламаторни цитокини (IL-1beta, IL-6, TNFalfa), антиинфламаторния цитокин IL-10 и ензими (COX-2, iNOS, SOD, ксантин оксидаза, глутатион свързаните ензими, супероксид дисмутаза, НАДФН

оксидаза 1 и 2), имащи отношение към възпалителния процес и оксидативния стрес при пациенти с остър исхемичен инсулт;

3. Оценка на липидните съотношения като TC/HDL-C, TG/HDL-C и LDL-C/HDL-C преди и след възстановяваща терапия с цитиколин и да се потърсят взаимовръзки с биомаркерите за оксидативен стрес, нива на арахидонова киселина и про-възпалителни цитокини;
4. Определяне промените на изследваните биомаркери и експресионните нива на про-инфламаторни цитокини и ензими след възстановяваща терапия с хранителна добавка, съдържаща цитиколин и растителни екстракти;
5. Търсене на корелативни взаимовръзки между серумните нива на изследваните биомаркери с тези на рутинни и специфични за заболяването биохимични показатели при изследваните пациенти преди и след допълващата терапия с цитиколин;
6. Създаване на многофакторни статистически модели за изясняване надеждността на изследваните биомаркери и витамин Д статуса като потенциални предиктивни и прогностични биомаркери, оценяващи:

6.1. Хода на заболяването;

6.2. Ефекта от суплементирането с цитиколин.

Очаквани резултати от проекта:

1. Получаване на нови данни за малко изследвани маркери за оксидативен стрес, оценяващи процеса на липидна пероксидация в мембраните;
2. Получаване на данни за витамин Д статуса, про-инфламаторни цитокини и ензими, които са недостатъчно изследвани в световен мащаб и в България при исхемичен инсулт;
3. Получаване на данни за експресионните нива на про-инфламаторни цитокини и ензими, имащи отношение към възпалителния отговор и оксидативния стрес при болни с остър исхемичен инсулт;
4. Анализ и оценка на промените на изследваните биомаркери след възстановяваща терапия с хранителна добавка, съдържаща цитиколин и растителни екстракти;
5. Търсене на взаимовръзки между серумните нива на изследваните биомаркери с тези на рутинни и специфични биохимични показатели, което ще позволи оценката на тяхната надеждност по отношение на хода на заболяването и ефекта от суплементирането с цитиколин.

Настоящият проект е тематично и методологично продължение на предходен проект, също финансиран от Фонд „Наука“ при Медицински университет – Варна. Настоящото изследване надгражда получените данни за ефекта на хранителната добавка Цитодеокс при пациенти с исхемичен инсулт и здрави доброволци след шестмесечна интервенция. Част от вече изследваните биомаркери, включително сиртуин 1 (*SIRT1*), бяха анализирани допълнително след стратификация според етиологичния подтип на инсульта, наличието на коморбидности и съпътстващата медикаментозна терапия. Паралелно с това панелът от биомаркери беше разширен с

нови показатели: 8-изо-простагландин $F_2\alpha$ (8-iso-PGF $_2\alpha$) като маркер за липидна пероксидация, мозъчен невротрофичен фактор (BDNF) като показател за невротрофични и невростатични механизми, Kelch-like ECH-associated protein 1 (*Keap1*) като компонент на редокс-регулаторната система и метилмалонова киселина като допълващ метаболитен маркер.

Интегрираният анализ обхваща липидния метаболизъм, липидната пероксидация, редокс-регулацията, клетъчната адаптация, митохондриално свързания метаболизъм и невростатичността. След интервенцията при пациентите беше установена благоприятна промяна в част от показателите на липидния профил и понижаване на съотношението общ холестерол/ HDL-холестерол. Серумната метилмалонова киселина намалява значително при пациентите, без съществена промяна при здравите контроли. Данните за арахидоновата киселина и 8-iso-PGF $_2\alpha$ показват, че отговорът на маркерите за липидна пероксидация зависи в значителна степен от изходния метаболитен статус. При здравите доброволци се наблюдава понижаване на двата маркера, докато при пациентите с изразена коморбидност, особено при захарен диабет, оксидативният стрес остава повишен.

Молекулният анализ показва повишаване на експресията на *BDNF* и *Keap1* както при здравите доброволци, така и при пациентите, а експресията на *SIRT1* се повиши основно в пациентската група. В съвкупност тези промени очертават едновременно повлияване на невротрофичните механизми, редокс-регулацията и адаптивния клетъчен стрес-отговор. Подгруповият анализ установи различия според вида на инсульта и наличието на коморбидности, което подчертава значението на клиничната хетерогенност за оценката на терапевтичния отговор.

Научният принос на проекта се състои в надграждането на резултатите от предходното изследване, по-задълбочения анализ на вече изследвани биомаркери и разширяването на панела с нови молекулярни и метаболитни показатели. Интегрирането на клинични, биохимични и генетични данни създава основа за по-прецизно проследяване на метаболитната и невровъзстановителната адаптация и за бъдещи контролирани проучвания, насочени към стратифицирани и персонализирани подпомагащи подходи при исхемичен инсулт.