# PROYECTO EPIGENESIS. ESTUDIO EPIGENÉTICO Y GENÉTICO COMBINADO CON INTEGRÓMICA DE DATOS Y ANÁLISIS FUNCIONAL PARA HALLAR GENES ASOCIADOS CON DETERIORO NEUROLÓGICO TRAS ICTUS ISQUÉMICO

**Dr. Israel Fernández Cadenas**
Hospital Universitari Mútua de Terrassa
**Dr. Manel Esteller Badosa**
Institut de Recerca Contra la Leucèmia Josep Carreras HUGTiP
**Dr. Cristòfol Vives Bauzà**
Hospital Universitari Son Espases - Palma

## 1. Resumen

El objetivo del proyecto EPIGENESIS era ver si factores epigenéticos como la metilación del ADN afectaban a la evolución del ictus. También queríamos encontrar nuevas dianas terapéuticas para generar fármacos neuroprotectores con el objetivo de mejorar el resultado de un ictus. Y, por último, queríamos entender los factores biológicos más importantes asociados al deterioro neurológico y la discapacidad después de sufrir un ictus utilizando datos masivos epigenéticos y genéticos.

Analizamos ictus isquémicos con datos de deterioro neurológico, utilizando la escala NIHSS y midiendo la diferencia de puntuación en esta escala entre la fase inicial del ictus (primeras horas) y las 24 h postictus. Hicimos un estudio *epigenome-wide association* (EWAS) para analizar el patrón de metilación de 850.000 islas CpG utilizando el EPIC-Infinium BeadChip. Analizamos las muestras de sangre obtenidas (<6h) de 500 ictus isquémicos y realizamos un estudio *genome-wide association* (GWAS) en más de 5.000 pacientes con ictus para detectar unos 6.000.000 de polimorfismos genotipados o imputados.

## 2. Resultados

Hemos descubierto que la epigenética está asociada con el deterioro neurológico; en concreto, los cambios en la metilación del gen EXOC4 se relacionan con el deterioro neurológico durante las primeras horas de sufrir un ictus y hasta el alta hospitalaria del paciente. Además, hemos descubierto que las mutaciones en otros genes que, como EXOC4, participan en la excitotoxicidad neuronal también se asocian con el deterioro neurológico postictus. En un estudio genético con más de 5.000 pacientes se comprobó que las variaciones genéticas comunes en los genes GRIA1 y ADAM23 podían modular el empeoramiento neurológico. Esta información será muy útil para entender estos procesos y encontrar fármacos para mejorar el pronóstico del ictus.

## 3. Relevancia y posibles implicaciones futuras

En el estudio EPIGENESIS hemos confirmado que los factores genéticos influyen en la evolución del ictus a largo plazo y hemos descubierto por primera vez que durante la fase aguda del ictus los factores genéticos también tienen un papel relevante (Ibáñez *et al.* Brain 2022), específicamente los genes ADAM23 y GRIA1.

También hemos descubierto que la epigenética es un factor heredable que influye tanto en el riesgo de ictus (Cullell *et al.* Thromb and Haem 2022 (en imprenta)) como en la evolución postictus (resultados en proceso de entrega a *Clinical Epigenetics*).
Por primera vez hemos observado que los cambios epigenéticos se asocian a la evolución del ictus durante la fase aguda. Hemos encontrado un gen, EXOC4, en el que los cambios en su metilación afectan a esta evolución neurológica. Además, en estudios de integrómica de vías moleculares con los datos genéticos y epigenéticos disponibles del estudio, hemos observado que la excitotoxicidad neuronal juega un papel muy relevante en el deterioro neurológico postictus. Estos resultados observados desde dos ángulos diferentes (epigenética y genética) nos hacen pensar que la excitotoxicidad neuronal puede ser una buena diana farmacológica para mejorar el pronóstico del ictus. De hecho, estamos colaborando con un grupo de investigadores de la Washington University in St. Louis para analizar un modelo de ratón y modular los genes asociados a la excitotoxicidad que hemos encontrado en este estudio (EXOC4, ADAM23 y GRIA1).

Respecto a EXOC4, de forma relevante debemos destacar que los cambios epigenéticos son más fácilmente modulables que las variaciones genéticas. De hecho, existen fármacos que cambian la metilación del ADN y que se utilizan en oncología. Por eso pensamos que nuestros resultados epigenéticos son bastante relevantes y pueden conducir a tratamientos neuroprotectores potenciales en el ictus.

Por otro lado, nuestro grupo también ha desarrollado una herramienta para predecir la evolución de los pacientes con ictus utilizando datos clínicos. Es un resultado de predicción que utiliza datos comunes y sencillos y resulta igual o más potente que otros resultados que se han publicado. Nosotros creemos que este resultado puede ser de ayuda en la práctica clínica para predecir a los pacientes con otra probabilidad de discapacidad y establecer una medicina personalizada. Esta medicina personalizada

podría consistir en una monitorización del enfermo más esmerada y también en terapias de rehabilitación más intensas para mejorar la funcionalidad de los pacientes, las cuales no se pueden aplicar a todos los ictus debido a su alto coste.

## 4. Bibliografía científica generada

Mola-Caminal M, Carrera C, Soriano-Tárraga C, Giralt-Steinhauer E, Díaz-Navarro RM, Tur S, Jiménez C, Medina-Dols A, Cullell N, Torres-Águila NP, Muiño E, Rodríguez-Campello A, Ois A, Cuadrado-Godia E, Vivanco-Hidalgo RM, Hernández-Guillamon M, Solé M, Delgado P, Bustamante A, García-Berrocoso T, Mendióroz M, Castellanos M, Serena J, Martí-Fàbregas J, Segura T, Serrano-Heras G, Obach V, Ribó M, Molina CA, Álvarez-Sabín J, Palomeras E, Freijo M, Font MA, Rosand J, Rost NS, Gallego-Fàbrega C, Lee JM, Heitsch L, Ibáñez L, Cruchaga C, Phuah CL, Lemmens R, Thijs V, Lindgren A, Maguire J, Rannikmäe K, Sudlow CL, Jern C, Stanne TM, Lorentzen E, Muñoz-Narbona L, Dávalos A, López-Cancio E, Worrall BB, Woo D, Kittner SJ, Mitchell BD, Montaner J, Roquer J, Krupinski J, Estivill X, Rabionet R, Vives-Bauzá C, Fernández-Cadenas I, Jiménez-Conde J. *PATJ Low Frequency Variants Are Associated With Worse Ischemic Stroke Functional Outcome*. Circ Res. 2019;124:114-120. IF: 15.

Söderholm M, Pedersen A, Lorentzen E, Stanne TM, Bevan S, Olsson M, Cole JW, Fernández-Cadenas I, Hankey GJ, Jiménez-Conde J, Jood K, Lee JM, Lemmens R, Levi C, Mitchell BD, Norrving B, Rannikmäe K, Rost NS, Rosand J, Rothwell PM, Scott R, Strbian D, Sturm JW, Sudlow C, Traylor M, Thijs V, Tatlisumak T, Woo D, Worrall BB, Maguire JM, Lindgren A, Jern C. International Stroke Genetics Consortium, the NINDS-SiGN Consortium, and the Genetics of Ischaemic Stroke Functional Outcome (GISCOME) Network. *Genome-wide association meta-analysis of functional outcome after ischemic stroke*. Neurology. 2019 19;92(12):e1271-e1283. IF: 8.

Muiño E, Bustamante A, Rodríguez-Campello A, Gallego-Fàbrega C, Ois A, Carrera C, Cullell N, Torres-Águila N, Cárcel-Márquez J, Rubiera M, Molina CA, Cuadrado-Godia E, Giralt-Steinhauer E, Jiménez-Conde J, Montaner J, Fernández-Cadenas I, Roquer J. *A parsimonious score with a free web tool for predicting disability after an ischemic stroke: the Parsifal Score*. J Neurol. 2020 May 26. IF: 3.7.

Gallego-Fàbrega C, Cullell N, Soriano-Tárraga C, Carrera C, Torres-Águila NP, Muiño E, Cárcel-Márquez J, de Moura MC, Fernández-Sanlés A, Esteller M, Elosua R, Jiménez-Conde J, Roquer J, Montaner J, Krupinski J, Fernández-Cadenas I. *DNA methylation of MMPs and TIMPs in atherothrombosis process in carotid plaques and blood tissues*. Oncotarget. 2020 Mar 10;11(10):905-912. No IF.

Ibáñez L, Heitsch L, Carrera C, Farias FHG, Del Aguila JL, Dhar R, Budde J, Bergmann K, Bradley J, Harari O, Phuah CL, Lemmens R, Viana Oliveira Souza AA, Moniche F, Cabezas-Juan A, Arenillas JF, Krupinksi J, Cullell N, Torres-Águila N, Muiño E, Cárcel-Márquez J, Martí-Fàbregas J, Delgado-Mederos R, Marín-Bueno R, Hornick A, Vives-Bauzà C, Navarro RD, Tur S, Jiménez C, Obach V, Segura T, Serrano-Heras G, Chung JW, Roquer J, Soriano-Tárraga C, Giralt-Steinhauer E, Mola-Caminal M, Pera J, Lapicka-Bodzioch K, Derbisz J, Dávalos A, López-Cancio E, Muñoz L, Tatlisumak T, Molina C, Ribó M, Bustamante A, Sobrino T, Castillo-Sánchez J, Campos F, Rodríguez-Castro E, Arias-Rivas S, Rodríguez-Yáñez M, Herbosa C, Ford AL, Gutiérrez-Romero A, Uribe-Pacheco R, Arauz A, Lopes-Cendes I, Lowenkopf T, Barboza MA, Amini H, Stamova B, Ander BP, Sharp FR, Kim GM, Bang OY, Jiménez-Conde J, Slowik A, Stribian D, Tsai EA, Burkly LC, Montaner J, Fernández-Cadenas I, Lee JM, Cruchaga C. *Multi-ancestry GWAS reveals excitotoxicity associated with outcome after ischaemic stroke*. Brain. 2022 Feb 25:awac080. doi: 10.1093/brain/awac080. IF:13.5.

Gallego-Fàbrega C, Muiño E, Cullell N, Cárcel-Márquez J, Lazcano U, Soriano-Tárraga C, Lledós M, Llucià-Carol L, Aguilera-Simón A, Marín R, Prats-Sánchez L, Camps-Renom P, Delgado-Mederos R, Martín-Campos JM, Delgado P, Martí-Fàbregas J, Montaner J, Krupinski J, Jiménez-Conde J, Roquer J, Fernández-Cadenas I. *Biological Age Acceleration Is Lower in Women With Ischemic Stroke Compared to Men*. Stroke. 2022 Feb 25:STROKEAHA121037419. doi: 10.1161/STROKEAHA.121.037419. IF: 7.9.

Cullell N, Soriano-Tárraga C, Gallego-Fàbrega C, Cárcel-Márquez J, Torres-Águila NP, Muiño E, Lledós M, Llucià-Carol L, Esteller M, Castro de Moura M, Montaner J, Fernández-Sanlés A, Elosua R, Delgado P, Martí-Fàbregas J, Krupinski J, Roquer J, Jiménez-Conde J, Fernández-Cadenas I. *DNA methylation and ischemic stroke risk: An Epigenome-Wide association study*. Throm Haem (en imprenta). IF: 5.7.