

PROJECTE EPIGENESIS. ESTUDI EPIGENÈTIC I GENÈTIC COMBINAT AMB INTEGRÒMICA DE DADES I ANÀLISI FUNCIONAL PER TROBAR GENS ASSOCIATS AMB DETERIORAMENT NEUROLÒGIC DESPRÉS D'UN ICTUS ISQUÈMIC

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. Resum

L'objectiu del projecte EPIGENESIS era veure si factors epigenètics com la metilació de l'ADN afectaven l'evolució de l'ictus. També volíem trobar noves dianes terapèutiques per generar fàrmacs neuroprotectors a fi de millorar el resultat d'un ictus. I, finalment, volíem entendre els factors biològics més importants associats al deteriorament neurològic i la discapacitat després de patir un ictus utilitzant dades massives epigenètiques i genètiques.

Vam analitzar ictus isquèmics amb dades de deteriorament neurològic, utilitzant l'escala NIHSS i mesurant la diferència de puntuació en aquesta escala entre la fase inicial de l'ictus (primeres hores) i les 24 h postictus. Vam fer un estudi *epigenome-wide association* (EWAS) per analitzar el patró de metilació de 850.000 illes CpG utilitzant l'EPIIC-Infinium BeadChip. Vam analitzar les mostres de sang obtingudes (<6h) de 500 ictus isquèmics i vam fer un estudi *genome-wide association* (GWAS) en més de 5.000 pacients amb ictus per detectar uns 6.000.000 de polimorfismes genotipats o imputats.

2. Resultats

Hem descobert que l'epigenètica està associada amb el deteriorament neurològic; en concret, els canvis en la metilació del gen EXOC4 es relacionen amb el deteriorament neurològic durant les primeres hores de patir un ictus i fins a l'alta hospitalària del pacient. A més, hem descobert que les mutacions en altres gens que, com l'EXOC4, participen en l'excitotoxicitat neuronal també s'associen amb el deteriorament neurològic postictus. En un estudi genètic amb més de 5.000 pacients es va comprovar que les variacions genètiques comunes en els gens GRIA1 i ADAM23 podien modular l'empitjorament neurològic. Aquesta informació serà molt útil per entendre aquests processos i trobar fàrmacs per millorar el pronòstic de l'ictus.

3. Rellevància i possibles implicacions futures

En l'estudi EPIGENESIS hem confirmat que els factors genètics influeixen en l'evolució de l'íctus a llarg termini i hem descobert per primera vegada que durant la fase aguda de l'íctus els factors genètics també tenen un paper rellevant (Ibáñez *et al.* Brain 2022), específicament els gens ADAM23 i GRIA1.

També hem descobert que l'epigenètica és un factor heretable que influeix tant en el risc d'íctus (Cullell *et al.* Thromb and Haem 2022 (en impremta)) com en l'evolució postictus (resultats en procés de lliurament a *Clinical Epigenetics*).

Per primera vegada hem observat que els canvis epigenètics s'associen a l'evolució de l'íctus durant la fase aguda. Hem trobat un gen, EXOC4, en el qual els canvis en la seva metilació afecten aquesta evolució neurològica. A més, en estudis d'integròmica de vies moleculars amb les dades genètiques i epigenètiques disponibles de l'estudi, hem observat que l'excitotoxicitat neuronal té un paper molt rellevant en el deteriorament neurològic postictus. Aquests resultats observats des de dos angles diferents (epigenètica i genètica) ens fan pensar que l'excitotoxicitat neuronal pot ser una bona diana farmacològica per millorar el pronòstic de l'íctus. De fet, estem col·laborant amb un grup de la Washington University in St. Louis per analitzar un model de ratolí i modular els gens associats a l'excitotoxicitat que hem trobat en aquest estudi (EXOC4, ADAM23 i GRIA1).

Respecte a EXOC4, de forma rellevant hem de destacar que els canvis epigenètics són més fàcilment modulables que no pas les variacions genètiques. De fet, existeixen fàrmacs que canvien la metilació de l'ADN i que s'utilitzen en oncologia. Per això pensem que els nostres resultats epigenètics són força rellevants i poden conduir a tractaments neuroprotectors potencials en l'íctus.

D'altra banda, el nostre grup també ha desenvolupat una eina per predir l'evolució dels pacients d'íctus utilitzant dades clíniques. És un resultat de predicció que utilitza dades comunes i senzilles i resulta igual o més potent que altres resultats que s'han publicat. Nosaltres creiem que aquest resultat pot ser d'ajuda en la pràctica clínica per predir els pacients amb una altra probabilitat de discapacitat i establir una medicina personalitzada. Aquesta medicina personalitzada podria consistir en un monitoratge del

malalt més acurat i també en teràpies de rehabilitació més intenses per millorar la funcionalitat dels pacients, les quals no es poden aplicar a tots els ictus degut a al seu cost elevat.

4. Bibliografia 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-Tàrraga C, Carrera C, Torres-Àguila 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, Krupinski J, Cullell N, Torres-Àguila N, Muiño E, Cárcel-Márquez J, Martí-Fàbregas J, Delgado-Mederos R, Marín-Bueno R, Hornick A, Vives-Bauzá C, Navarro RD, Tur S, Jiménez C, Obach V, Segura T, Serrano-Heras G, Chung JW, Roquer J, Soriano-Tàrraga 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-Tàrraga 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-Tàrraga C, Gallego-Fàbrega C, Cárcel-Márquez J, Torres-Àguila 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 impremta). IF: 5.7.