

Influencia del sexo, la edad y la diabetes en las modificaciones del transcriptoma y proteoma tras la isquemia cerebral

(Ramiro et al. BMC Neuroscience. 2023)

Paula García Rodríguez, PhD Student

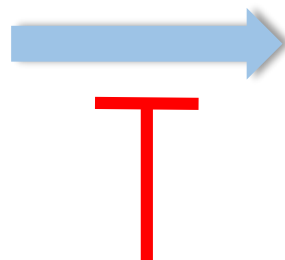
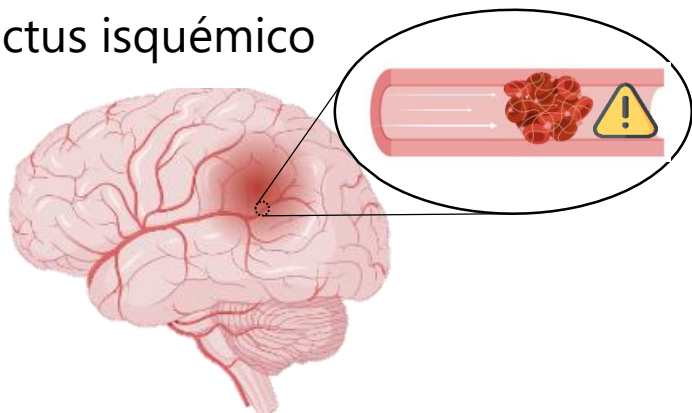
Laboratorio de Investigación Neurovascular

Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR), Barcelona

Madrid, 24/03/2023

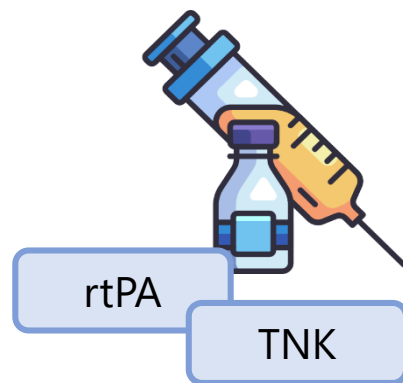


Ictus isquémico

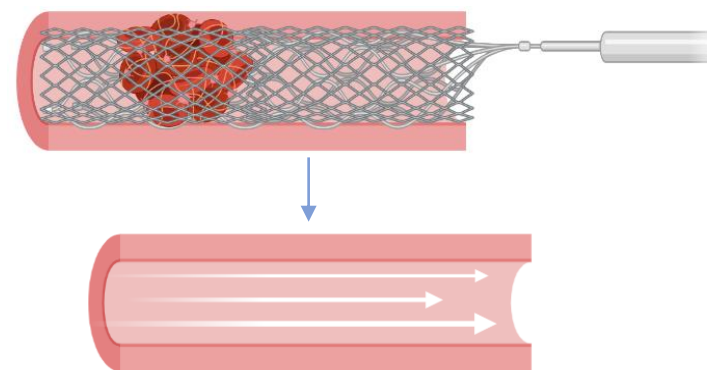


Terapias de reperfusión

Tratamiento farmacológico



Trombectomía mecánica



> **1.000** agentes neuroprotectores **han fallado** en la práctica clínica

Emerging neuroprotective strategies for the treatment of ischemic stroke: An overview of clinical and preclinical studies

Developing neuroprotective strategies for ischemic stroke

The neuroprotective effect of Apelin on ischemic stroke: activating AMPK/GSK3β/Nrf2 signaling

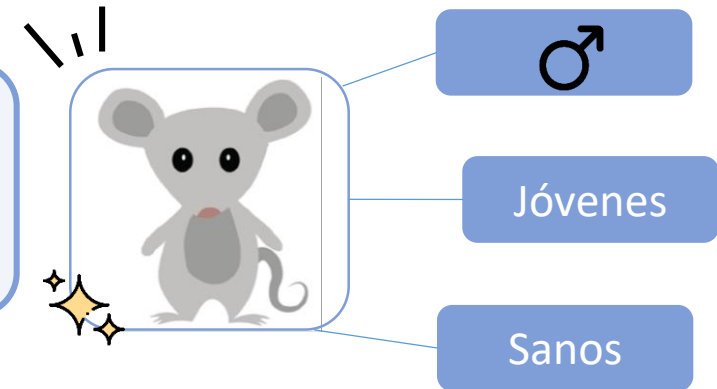
Glucagon-like peptide-1 receptor agonists as neuroprotective agents for ischemic stroke: a systematic review

β-Caryophyllene suppresses ferroptosis induced by hypoxia reperfusion via activation of the PI3K/Akt pathway in MCAO/R rats

BENCH TO BEDSIDE



Modelos animales utilizados en experimentación **no representan** adecuadamente las características de los pacientes.



Stroke Treatment Academy Industry Roundtable

STAIR

Ambos sexos

Edad avanzada

Comorbilidades

♀ ♂ ≈

Illustration of a person in a hospital bed with a red 'X' over it, and a diagram showing three mice (one with glasses) followed by an equals sign and two human figures, one of whom is elderly and using a cane.

Objetivo: Explorar los cambios **proteómicos** y **transcriptómicos** a nivel cerebral desencadenados durante la fase **hiperaguda** de la isquemia cerebral en ratones:

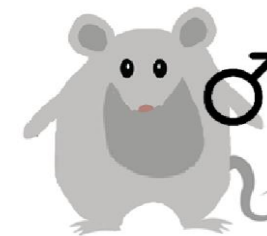


8 jóvenes (8-12w)
4 sham

Simats et al (2020)



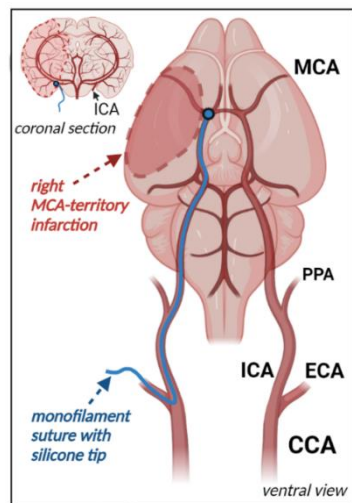
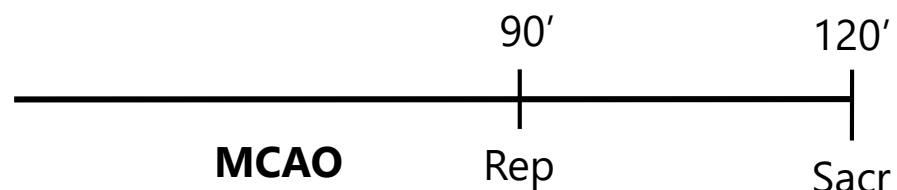
8 jóvenes
4 sham



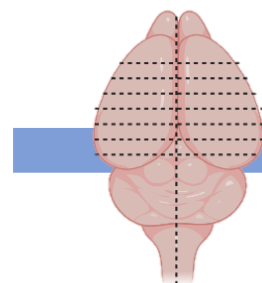
8 jóvenes db/db
4 sham



8 edad avanzada (18 m)
4 sham



Lemmerman et al (2022)



Proteínas y RNA

Estudio transcriptómico y proteómico

MS

Microarrays



TRANSCRIPTÓMICA

Genes diferencialmente expresados (DEG)

Table 1 Top 15 differentially expressed genes (FDR < 0.25) between the infarcted hemisphere and the contralateral healthy hemisphere 2 h after cerebral ischemia induction. Genes that are differentially expressed in all the groups of animals are highlighted in bold. FDR: false discovery rate; logFC: Logarithmic fold change

Young male mice, <i>males</i>				Young female mice, <i>females</i>				Diabetic young male mice, <i>diabetic</i>				Aged male mice, <i>old</i>			
SYMBOL	logFC	P.Value	FDR	SYMBOL	logFC	P.Value	FDR	SYMBOL	logFC	P.Value	FDR	SYMBOL	logFC	P.Value	FDR
CCL3	2.4958	1.73E-15	8.80E-12	ATF3	1.4557	1.42E-06	0.00284	<i>HSPA1A</i>	2.4544	1.02E-09	5.17E-06	NPAS4	2.9274	1.53E-08	7.75E-05
<i>FOSB</i>	1.9774	7.77E-12	1.58E-08	<i>PTGS2</i>	1.5976	1.76E-06	0.00284	<i>FOS</i>	2.4266	9.29E-09	1.63E-05	CCL3	2.0499	1.08E-07	2.74E-04
<i>CCN1</i>	1.8493	1.10E-11	1.58E-08	<i>CCRL2</i>	1.1296	2.21E-06	0.00284	<i>CCN1</i>	1.9876	9.61E-09	1.63E-05	<i>FOS</i>	1.6891	8.48E-07	0.00143
<i>FOS</i>	2.1172	1.25E-11	1.58E-08	<i>FOS</i>	1.5602	2.24E-06	0.00284	CCL3	2.6185	1.55E-08	1.97E-05	<i>IL1A</i>	1.7778	2.60E-06	0.00329
NPAS4	2.6951	7.08E-11	7.18E-08	CCL3	2.1777	2.93E-06	0.00298	<i>FOSB</i>	2.1383	4.27E-08	4.33E-05	<i>PTGS2</i>	1.3054	5.90E-06	0.00599
ATF3	1.6062	1.09E-09	9.22E-07	NPAS4	2.2737	4.40E-06	0.00372	<i>GADD45G</i>	1.7414	5.81E-08	4.91E-05	<i>FOSB</i>	1.5304	9.64E-06	0.00815
<i>JUNB</i>	1.4066	2.36E-09	1.67E-06	<i>ADAMTS1</i>	1.0314	6.65E-06	0.00482	<i>IER2</i>	1.2020	9.91E-08	7.18E-05	<i>DUSP6</i>	0.9922	3.29E-05	0.02382
<i>RGS2</i>	1.4974	2.80E-09	1.67E-06	<i>CCN1</i>	1.3156	9.48E-06	0.00601	<i>THBS1</i>	1.8039	1.14E-07	7.22E-05	<i>HSPA1A</i>	1.6433	7.39E-05	0.04390
<i>GADD45G</i>	1.3902	2.96E-09	1.67E-06	<i>NR4A1</i>	1.0643	1.54E-05	0.00868	NPAS4	3.1196	3.98E-07	2.25E-04	<i>JUN</i>	0.8117	8.45E-05	0.04390
<i>HSPA1A</i>	1.5433	3.32E-09	1.68E-06	<i>FOSB</i>	1.5493	1.88E-05	0.00951	<i>DUSP6</i>	1.1689	5.27E-07	2.67E-04	<i>CCL4</i>	1.1057	8.66E-05	0.04390
<i>EGR4</i>	1.4966	8.59E-09	3.79E-06	<i>RND3</i>	0.8880	2.34E-05	0.01079	NR4A1	1.6955	7.58E-07	3.49E-04	<i>FKBP11</i>	-1.0158	1.84E-04	0.08205
<i>NR4A1</i>	1.4166	8.97E-09	3.79E-06	<i>RGS1</i>	1.1871	2.88E-05	0.01216	<i>EGR4</i>	1.6425	9.33E-07	3.94E-04	<i>GM9958</i>	-0.9378	2.12E-04	0.08205
<i>PTGS2</i>	1.3968	1.51E-08	5.88E-06	<i>GADD45G</i>	1.0496	3.97E-05	0.01547	<i>RGS2</i>	1.3091	1.09E-06	4.23E-04	NR4A1	1.1258	2.21E-04	0.08205
<i>BTG2</i>	1.2922	2.79E-08	1.01E-05	<i>DUSP6</i>	0.8763	4.39E-05	0.01547	<i>JUN</i>	1.1095	1.17E-06	4.23E-04	<i>CCRL2</i>	0.9681	2.27E-04	0.08205
<i>EGR2</i>	1.3976	4.45E-08	1.51E-05	<i>GALNT12</i>	-1.1040	4.58E-05	0.01547	<i>AKAP12</i>	0.9770	1.51E-06	5.10E-04	<i>CCN1</i>	1.2480	2.56E-04	0.08651

PROTEÓMICA

Proteínas diferencialmente expresadas

Table 2 Top 15 proteins differentially expressed (FDR < 0.25) between the ipsilateral hemisphere and the contralateral hemisphere 2 h after cerebral ischemia induction FDR false discovery rate; logFC Logarithmic fold change

Young male mice, <i>males</i>				Young female mice, <i>females</i>				Diabetic young male mice, <i>diabetic</i>				Aged male mice, <i>old</i>			
UNIPROT	logFC	P.Value	FDR	UNIPROT	logFC	P.Value	FDR	UNIPROT	logFC	P.Value	FDR	UNIPROT	logFC	P.Value	FDR
Q8CI32/Bag5	-0.3250	2.82E-08	7.01E-05	Q8BKX1/Baiap2	0.4799	1.62E-05	0.0413	Q8VBY2/Camkk1	-0.4021	1.55E-07	3.85E-04				
P11798/Camk2a	-0.2119	9.70E-05	0.1205	Q8CGY8/Ogt	-0.2743	1.29E-04	0.1068	O70433/Fhl2	-0.6287	5.24E-07	6.51E-04				
Q6PHZ2/Camk2d	-0.1114	3.09E-04	0.2427	Q920P5/Ak5	-0.2659	1.43E-04	0.1068	Q62318/Trim28	-0.2786	1.21E-06	0.0010				
O35927/Ctnnd2	-0.0972	3.91E-04	0.2427	F6SEU4/Syngap1	0.4880	1.93E-04	0.1068	Q8R570/Snap47	-0.4342	6.25E-06	0.0037				
				P68404/Prkcb	-0.2485	2.09E-04	0.1068	P27005/S100a8	0.7479	7.42E-06	0.0037				
				P08414/Camk4	-0.3514	4.61E-04	0.1680	P08414/Camk4	-0.5602	9.31E-06	0.0039				
				Q9Z2Y3/Homer1	0.2486	5.01E-04	0.1680	Q64337/Sqtm1	-0.4070	1.33E-05	0.0041				
				E9Q0K9/Elmod1	-0.3820	5.27E-04	0.1680	Q9WV34/Mpp2	-0.2949	1.34E-05	0.0041				
				Q8BFT9/Svop	0.2494	7.22E-04	0.2046	Q8BFR5/Tufm	-0.3072	1.68E-05	0.0046				
				Q61329/Zfhx3	0.1805	8.62E-04	0.2200	Q8K0E8/Fgb	0.8275	1.99E-05	0.0049				
				Q8VEA4/Chchd4	0.2649	1.01E-03	0.2201	Q3UHD6/Snx27	-0.5525	2.30E-05	0.0049				
				E9QK62/Ngef	-0.2693	1.04E-03	0.2201	Q68FF6/Git1	-0.4539	2.38E-05	0.0049				
				P97822/Anp32e	-0.1824	1.19E-03	0.2332	Q920P5/Ak5	-0.5258	2.73E-05	0.0052				
				O88737/Bsn	0.2131	1.28E-03	0.2332	P68404/Prkcb	-0.2960	3.87E-05	0.0069				
								P04627/Araf	-0.4653	4.54E-05	0.0070				

Análisis integrativo de los resultados transcriptómicos

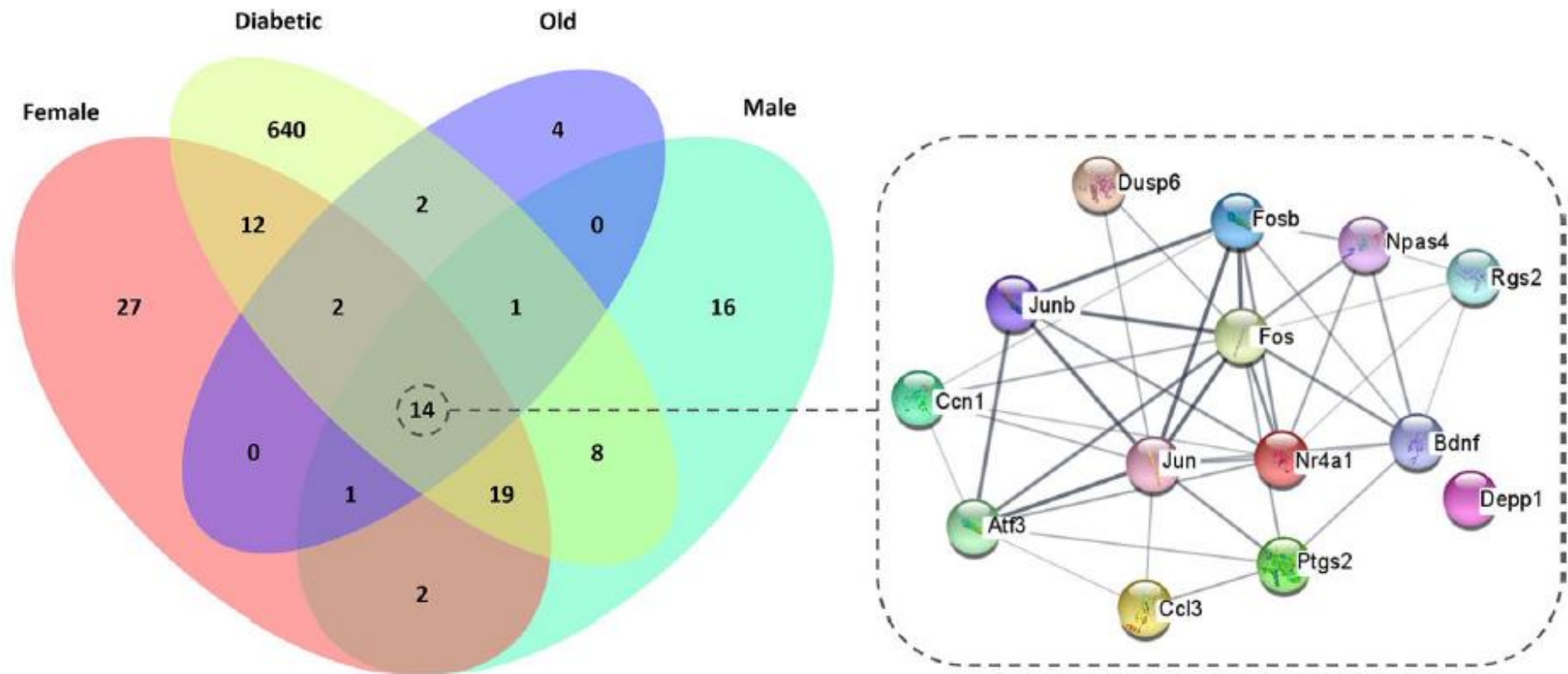
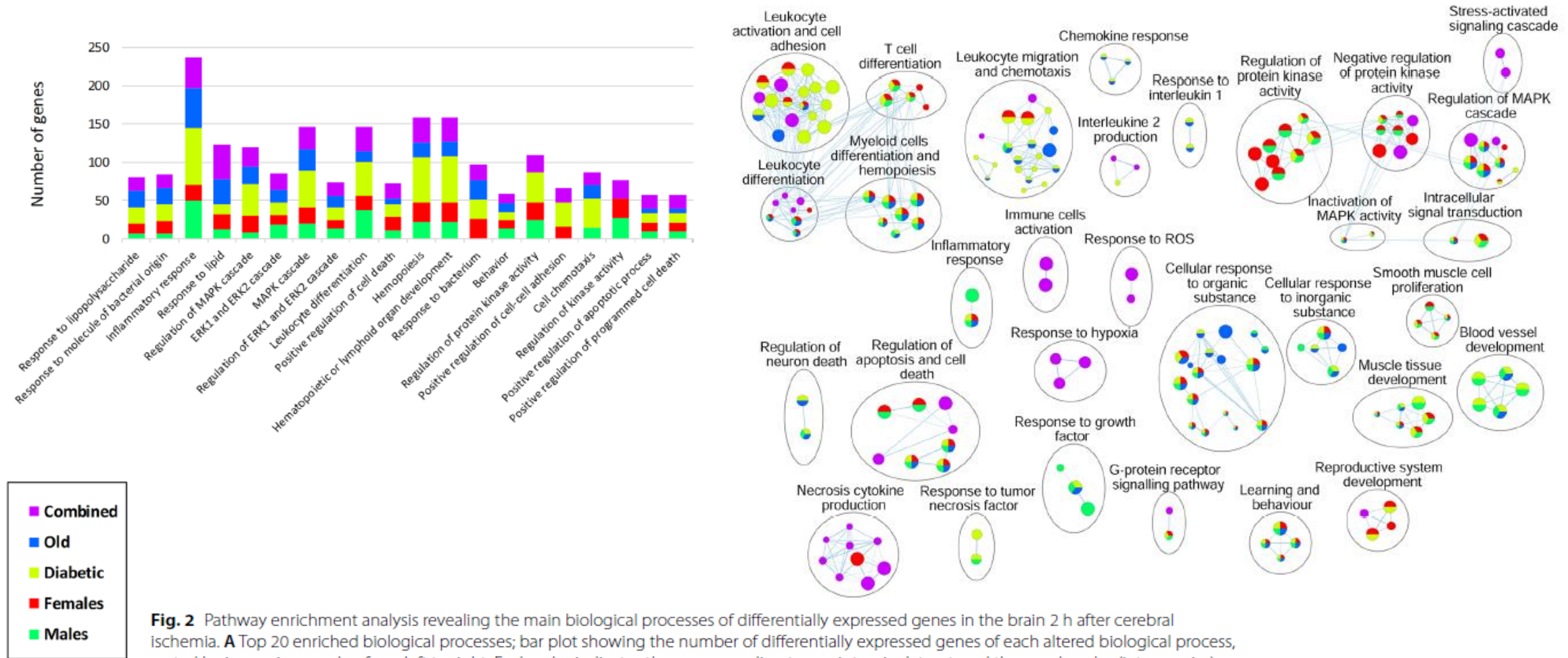
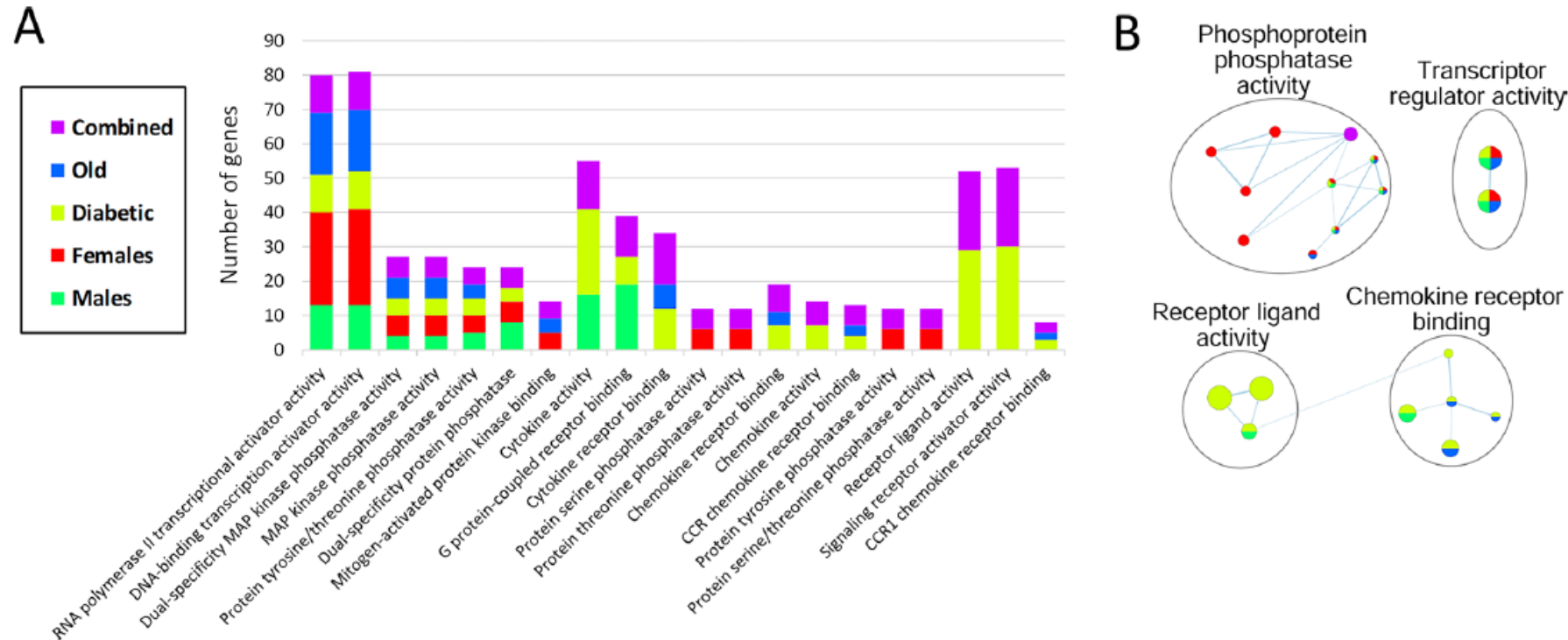


Fig. 1 Venn diagram of differentially expressed genes in the ischemic brain (FDR < 0.25) in all studied groups. The 14 common differentially expressed genes are shown through a STRING network revealing the main interactions between molecules. The strength of the correlation between two genes (nodes) is reflected by the thickness of the edge. Diabetic: diabetic young male mice; Female: young female mice; Male: young male mice; Old: aged male mice

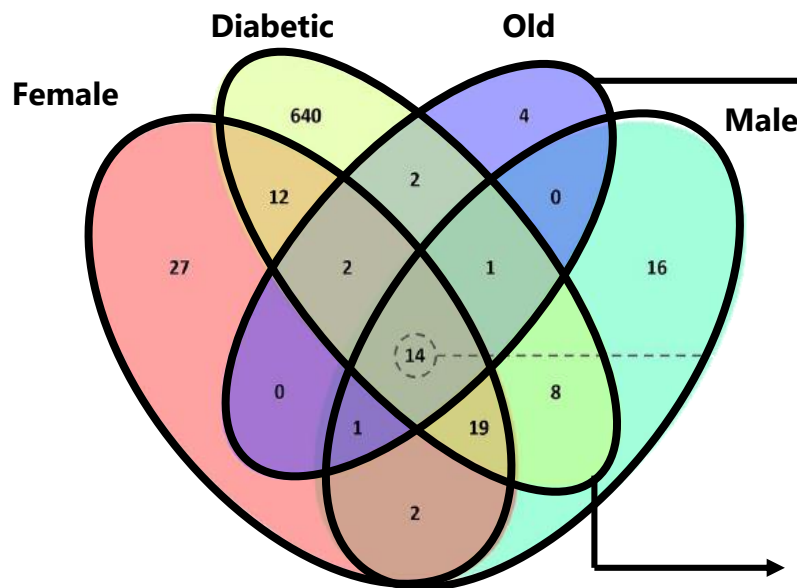
Análisis integrativo de los resultados transcriptómicos: *procesos biológicos*



Análisis integrativo de los resultados transcriptómicos: *funciones moleculares*



TRANSCRIPTÓMICA



Sexo

- Factores genéticos/epigenéticos
- Activación diferencial de programas de muerte celular
- Respuestas del SI

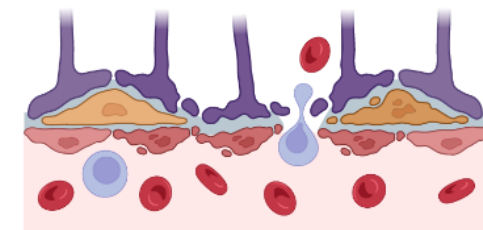
Edad

- "Ratones de edad avanzada ↑ DEG 3 días después del evento isquémico" *Androvic P, et al (2020)*
- En la fase hiperaguda (2h) los ratones de edad avanzada tienen ↓ DEG que los jóvenes
→ La respuesta transcripcional tras la isquemia es un proceso lento que se puede exacerbar en tiempos más tardíos.

Comorbilidades

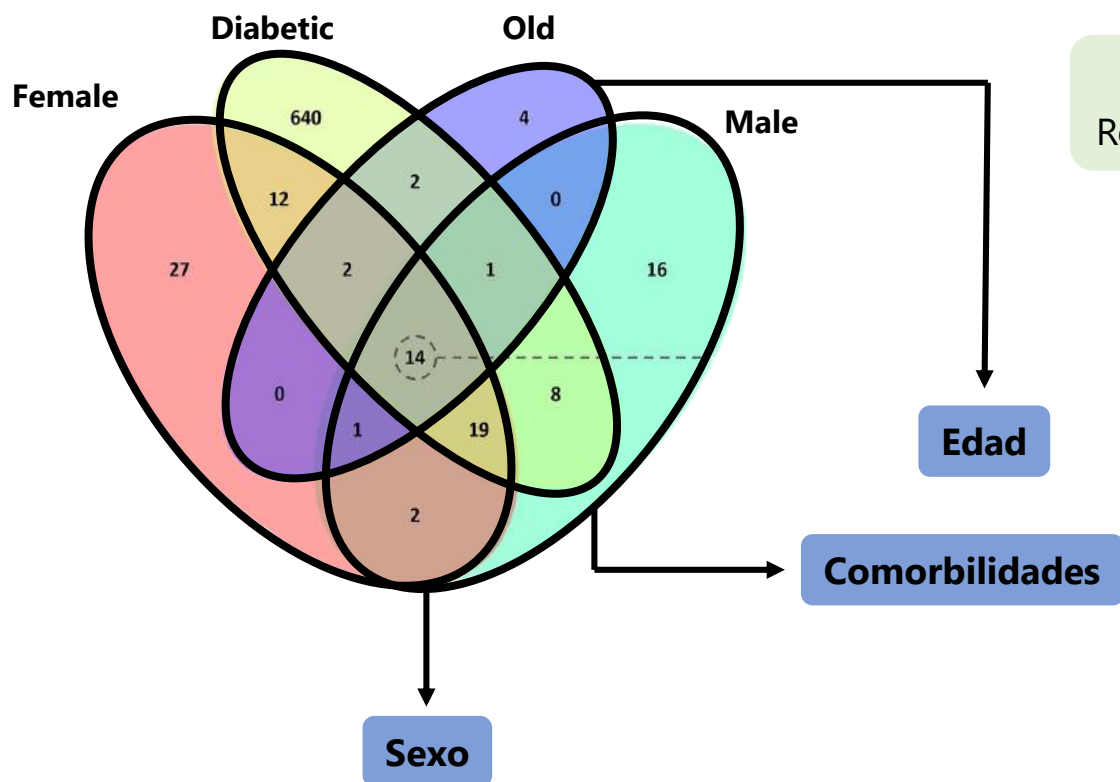
- Obesidad, diabetes e hipertensión → factores de riesgo para presentar peor outcome
- Ratones diabéticos ↑ DEG → activación y modulación de procesos biológicos:

- Adhesión celular
- Activación leucocitaria



Daño en la BHE

TRANSCRIPTÓMICA – ANÁLISIS VÍAS ENRIQUECIMIENTO



DEG ♂ > ♀

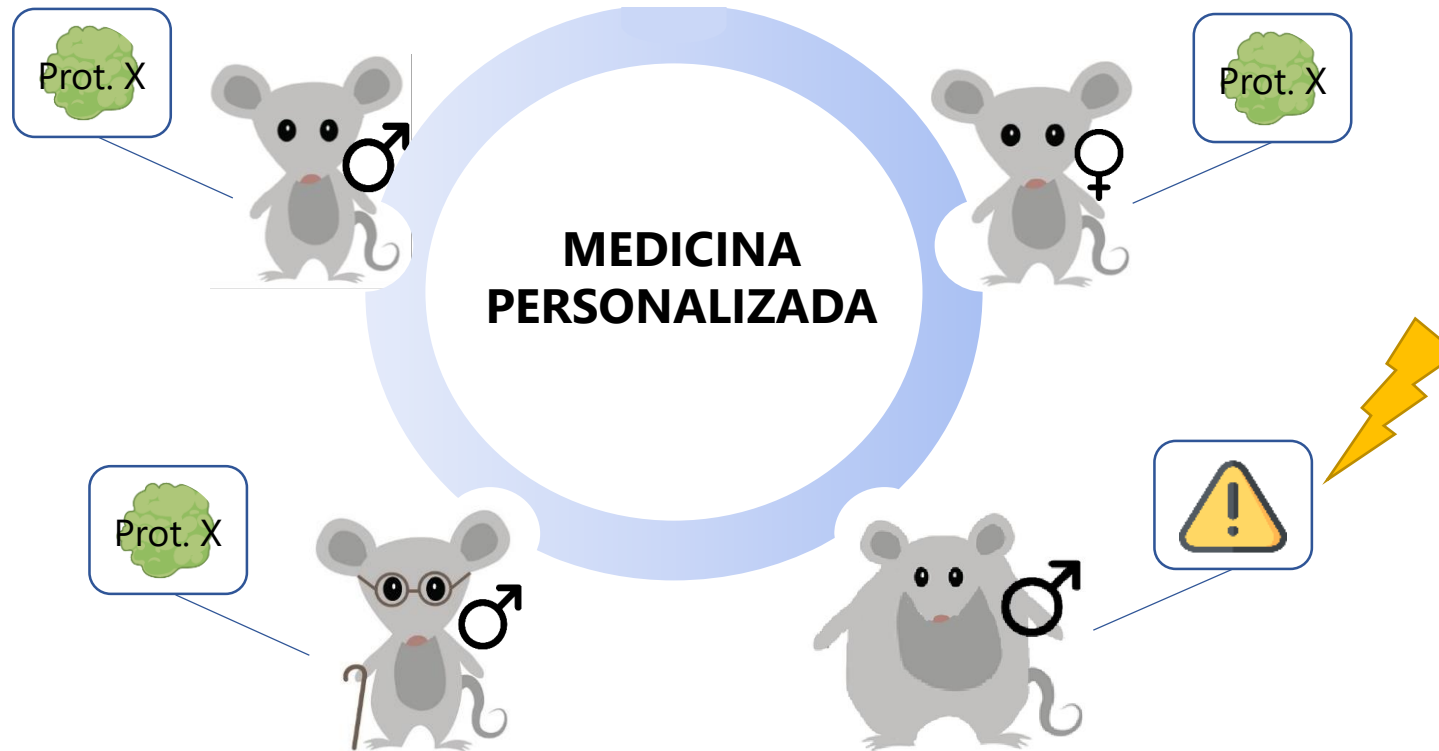
Alteración debido a hormonas

INFLAMACIÓN
Rol dual en la respuesta al ictus

HEMOPOYESIS
Tras el ictus ↑ las células innatas del SI (HSC)

↑ daño BHE:
transformación hemorrágica,
daño por reperusión, edema...

↓ funcionalidad de las HSC
↓ células T



La respuesta molecular al ictus varía en función del fenotipo de los animales, lo que refuerza la necesidad de seguir las recomendaciones STAIR a la hora de diseñar futuros estudios para mejorar la traducción *"from bench to bedside"*.

Stroke
Treatment
Academy
Industry
Roundtable



Ambos sexos

Edad avanzada

Comorbilidades

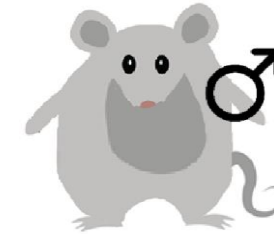
1) Variabilidad inter-ensayo**2) Consideración de otros fenotipos****3) Extrapolación temporal ratón – humano ?****4) Evaluación de los cambios a nivel proteómico en etapas tempranas****5) No evaluación del volumen de infarto**

8 jóvenes (8-12w)
4 sham

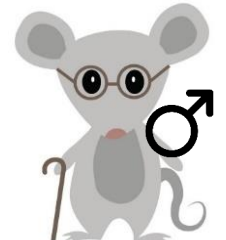
Simats et al (2020)



8 jóvenes
4 sham



8 jóvenes db/db
4 sham



8 edad avanzada (18 m)
4 sham



Investigadores Principales:

Anna Rosell
Mar Hernández
Pilar Delgado
Joan Montaner

Técnicos de Laboratorio:

Anna Penalba
Miguel García
Júlia Valor
Kerrie Adrian

Estudiantes pre-doctorales

Paula García
Daisy Guamán
Berta Paez
Alejandro Ballvé

Investigadora post-doctoral

Anna Bonaterra

Estadístico

Marcel Lamana

Enfermero

Jesús Pizarro