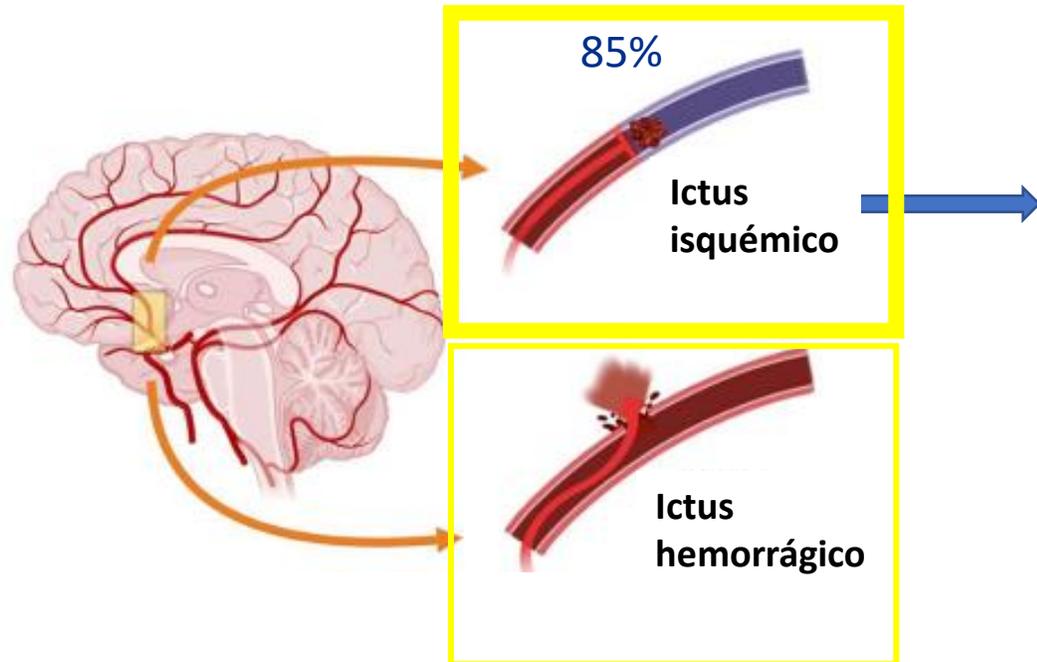


LA MICROBIOTA INTESTINAL Y SU RELACIÓN CON EL RIESGO Y LA DISCAPACIDAD POST-ICTUS



Miquel Lledós

Clasificación del ictus



TOAST

Subtype	Classification
1	Large-artery atherosclerosis (embolus/thrombosis)
2	Small-vessel occlusion (lacune)
3	Cardioembolism (high-risk/medium-risk)
4	Stroke of other determined etiology
5	Stroke of undetermined etiology
	(a) Two or more causes identified
	(b) Negative evaluation
	(c) Incomplete evaluation

Adams HP Jr, Bendixen BH, Kappelle LJ, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke*. 1993;24(1):35-41. doi:10.1161/01.str.24.1.35

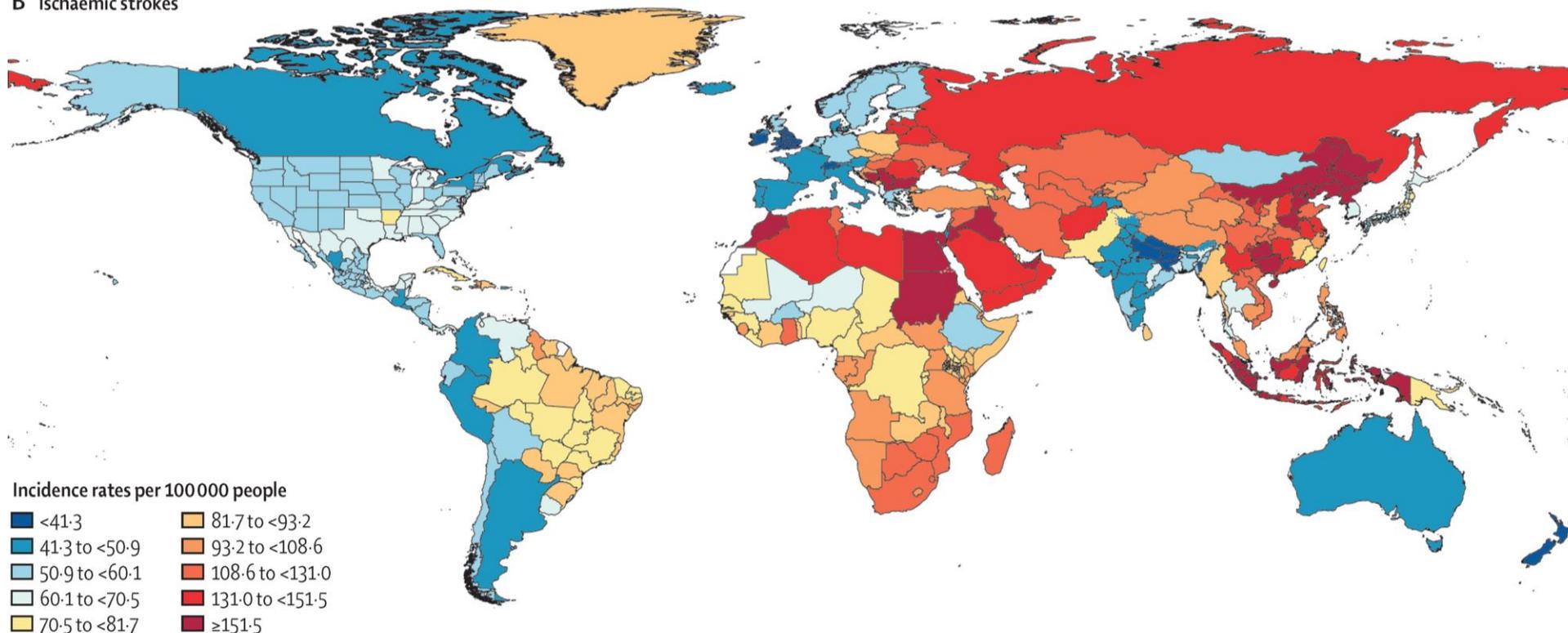
Incidencia global del ictus isquémico

PRINCIPAL CAUSA DE DISCAPACIDAD EN ADULTOS

15 millones casos/año
5.5 millones muertes anuales

> 17,000€ paciente/año
(España)

B Ischaemic strokes



Severidad y evolución a largo plazo

Fase aguda: 0 y 24 horas
NIHSS

Evolución funcional: 3 meses
mRS

NIHSS Item

Level of consciousness

Response to questions

Response to commands

Best gaze

Visual

Facial palsy

Motor*

Ataxia

**Buen
pronóstico**

**Mal
pronóstico**

Modified Rankin Scale

0	No symptoms
1	No significant disability. Able to carry out all usual activities, despite some symptoms.
2	Slight disability. Able to look after own affairs without assistance, but unable to carry out all previous activities.
3	Moderate disability. Requires some help, but able to walk unassisted.
4	Moderate severe disability. Unable to attend to own bodily needs without assistance, and unable to walk unassisted.
5	Severe disability. Requires constant nursing care and attention, bedridden, incontinent.
6	Dead

Basal y 24h post-ictus

< 5: Leve

5-15: Moderado

> 15: Severo

Extinction/inattention

Δ NIHSS < 4: mejoría

Δ NIHSS \geq 4: empeoramiento

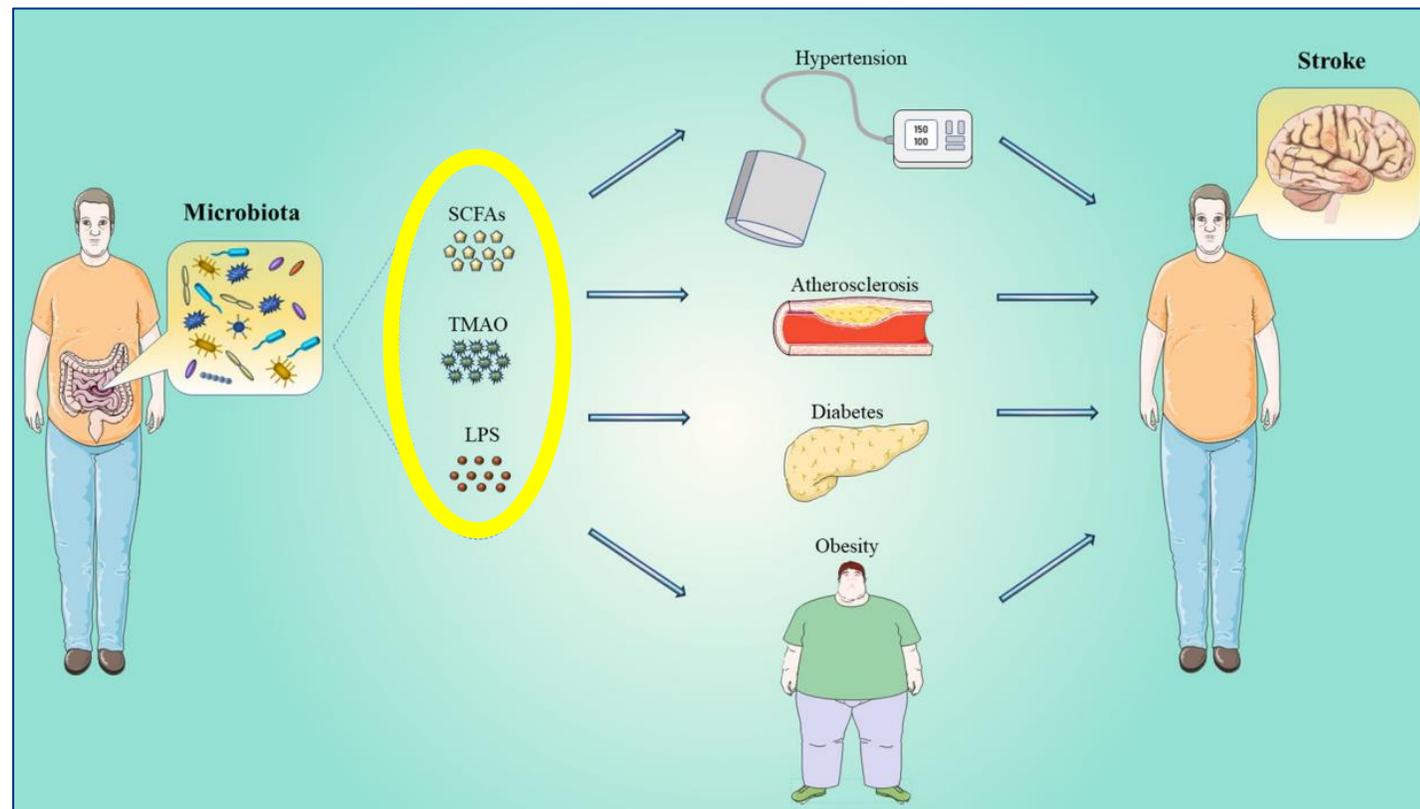
Factores de riesgo

Nonmodifiable risk factors

Age
Sex
Low birth weight
Race/ethnicity
Family history (including intracranial aneurysms)
Genetic predisposition (including Fabry disease, sickle cell disease, CADASIL, coagulopathies)

Modifiable risk factors

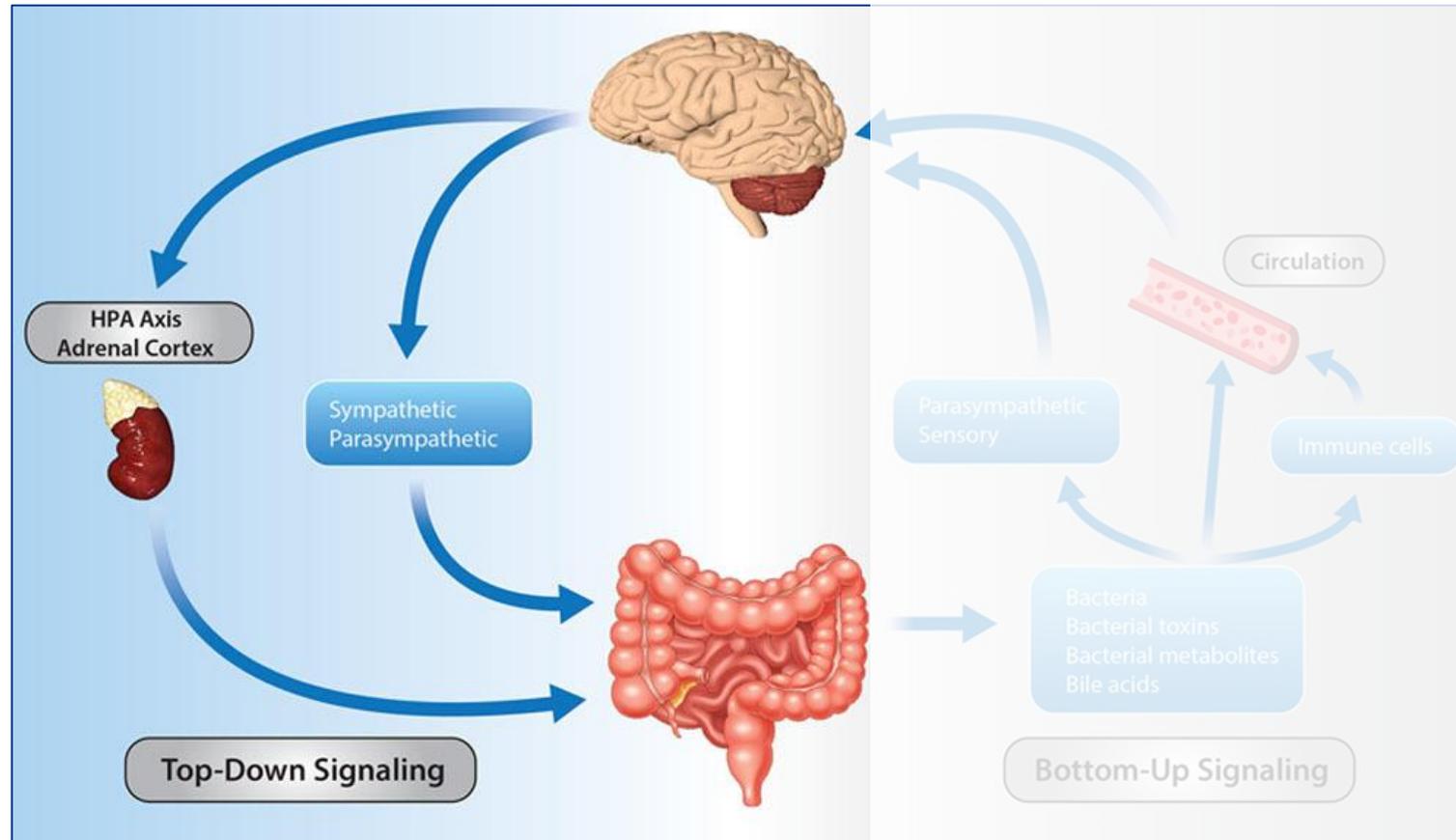
Hypertension
Diabetes
Dyslipidemia
Obesity
Metabolic syndrome
Diet and nutrition
Cigarette smoking
Alcohol consumption
Physical inactivity
Obstructive sleep apnea
Large artery atherosclerosis:
Extracranial carotid disease
Extracranial vertebrobasilar disease
Intracranial atherosclerosis
Arterial fibrillation
Aortic atherosclerosis
Patent foramen ovale
Prosthetic heart valves
Valvular heart disease
Cardiomyopathy
Acute myocardial infarction
Hypercoagulability
Hyperhomocysteinemia
Antiphospholipid antibody syndrome



Zhao L, Yang L, Guo Y, Xiao J, Zhang J, Xu S. New Insights into Stroke Prevention and Treatment: Gut Microbiome. *Cell Mol Neurobiol.* 2022;42(2):455-472. doi:10.1007/s10571-021-01047-w

Eje microbiota-intestino-cerebro

La comunicación a lo largo del eje microbiota-intestino-cerebro es bidireccional

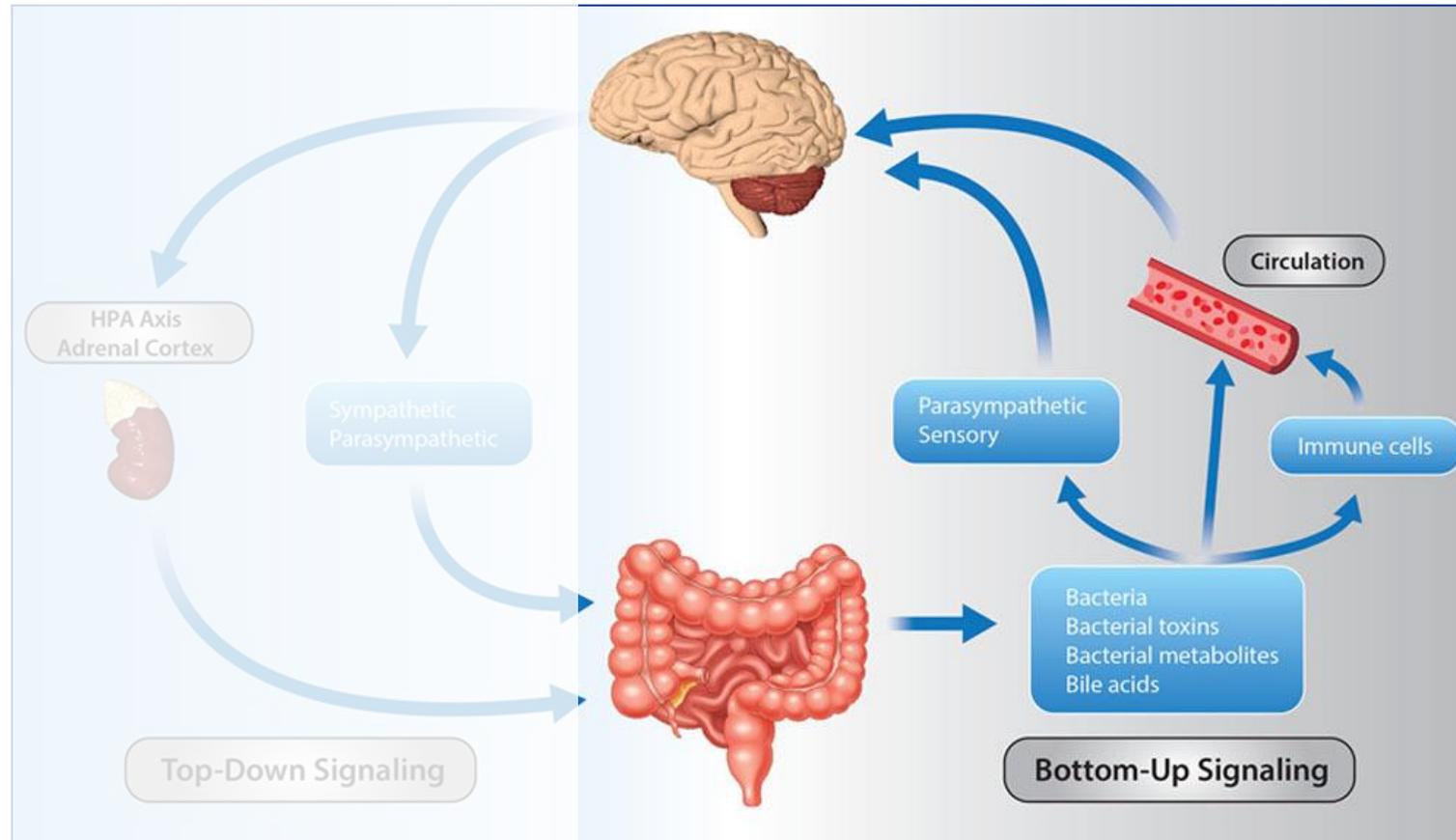


- Motilidad intestinal
- Permeabilidad intestinal
- Activación de las células inmunitarias

Durgan DJ, Lee J, McCullough LD, Bryan RM Jr. Examining the Role of the Microbiota-Gut-Brain Axis in Stroke. *Stroke*. 2019;50(8):2270-2277. doi:10.1161/STROKEAHA.119.025140

Eje microbiota-intestino-cerebro

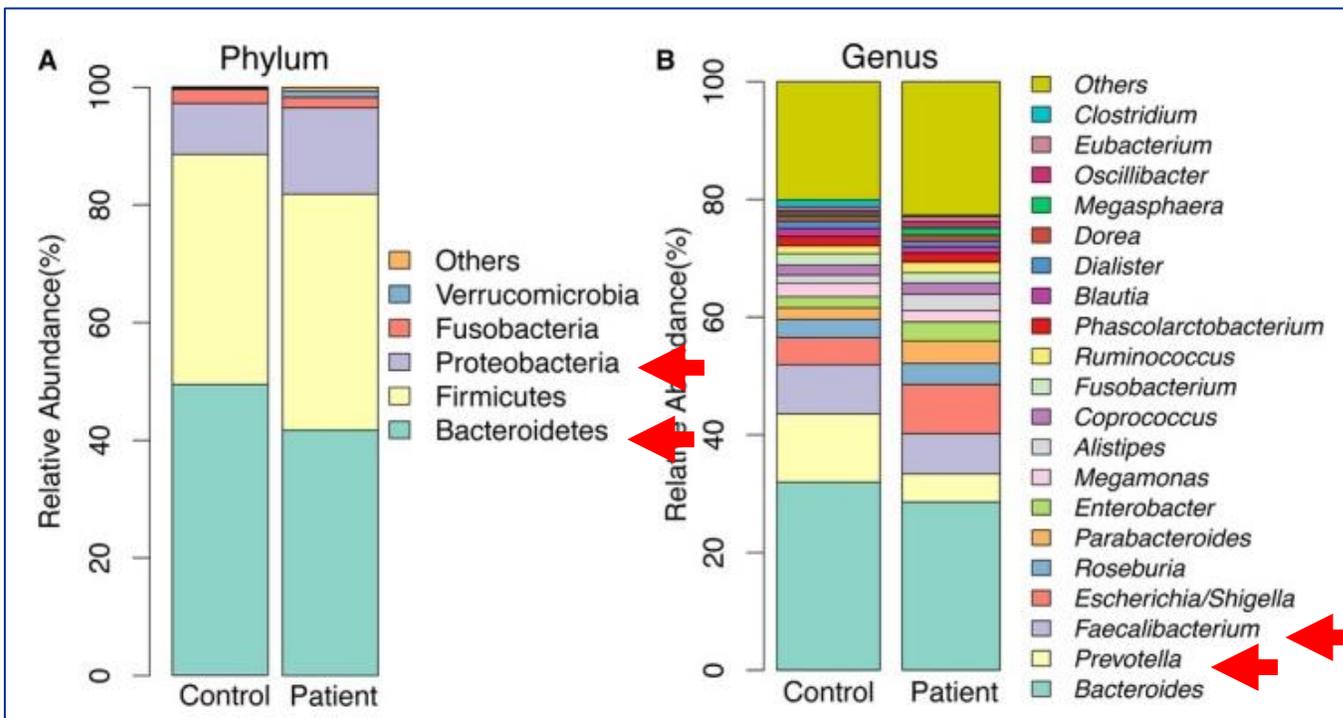
La comunicación a lo largo del eje microbiota-intestino-cerebro es bidireccional



- Neuroinflamación
- Modulación de neuronas, microglía, astrocitos, barrera hematoencefálica

Durgan DJ, Lee J, McCullough LD, Bryan RM Jr. Examining the Role of the Microbiota-Gut-Brain Axis in Stroke. *Stroke*. 2019;50(8):2270-2277. doi:10.1161/STROKEAHA.119.025140

Antecedentes y estudios previos



Yin, J. et al. 2015. Dysbiosis of Gut Microbiota With Reduced Trimethylamine-N-Oxide Level in Patients With Large-Artery Atherosclerotic Stroke or Transient Ischemic Attack. J Am Heart Assoc

Central Nervous System and the Colonic Bioreactor: Analysis of Colonic Microbiota in Patients with Stroke Unravels Unknown Mechanisms of the Host Defense after Brain Injury

Higher Risk of Stroke Is Correlated With Increased Opportunistic Pathogen Load and Reduced Levels of Butyrate-Producing Bacteria in the Gut

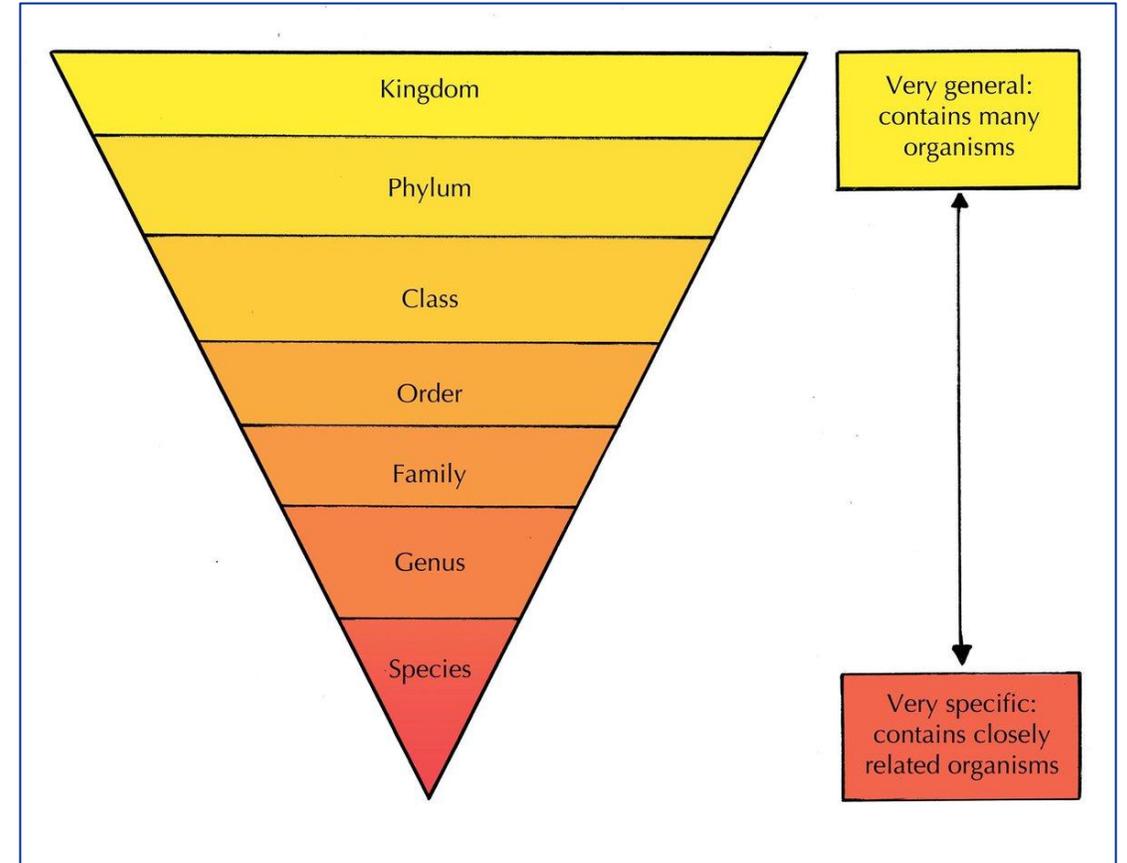
Spring 5-1-2015

Manipulation of the Microbiome and Its Impact on Functional Recovery Following Ischemic Stroke

Michal Jandzinski

Objetivos

- Identificar si la microbiota intestinal está asociada con el **riesgo de ictus** isquémico.
- Identificar si la microbiota intestinal está asociada con la **evolución neurológica a corto plazo** (inicio y 24 h después del ictus) y el **resultado funcional a los 3 meses** después del ictus isquémico.



Secuenciación metagenómica shotgun

Objetivos

- Identificar si la microbiota intestinal está asociada con el riesgo de ictus isquémico.

Pacientes con ictus isquémico vs Controles sanos

- Identificar si la microbiota intestinal está asociada con la evolución neurológica a corto plazo (inicio y 24 h después del ictus) y el resultado funcional a los 3 meses después del ictus isquémico.

Pacientes con ictus isquémico

- **Evolución neurológica durante la fase aguda (NIHSS):** ictus leve vs moderado vs severo

· NIHSS basal
· NIHSS 24 horas post-ictus } Δ NIHSS: mejoría vs empeoramiento

- **Evolución funcional 3 meses post-ictus (mRS):** buen pronóstico vs mal pronóstico

* Exclusión: pacientes con una discapacidad previa al ictus

Métodos

	Criterios de inclusión	Criterios de inclusión
Grupo de estudio	<ul style="list-style-type: none">- Pacientes con ictus isquémico (demostrado por resonancia magnética o TC craneal).	<ul style="list-style-type: none">- Pacientes menores de 18 años.- Enfermedad grave adicional o afección médica inestable.- Inclusión en ensayos clínicos con fármacos neuroprotectores.
Grupo control	<ul style="list-style-type: none">- Personas asintomáticas pertenecientes al entorno del paciente.	<ul style="list-style-type: none">- Menores de 18 años.- Haber sufrido previamente un ictus o un evento cardiovascular.- Presencia de enfermedades que afecten al aparato digestivo.- Inclusión en ensayos clínicos con fármacos neuroprotectores.

Métodos

- **Diversidad α :** diversidad dentro de la muestra
 - Observed
 - Chao1
 - ACE
 - Shannon
 - Simpson
- Riqueza
- Riqueza y homogeneidad
- **Diversidad β :** similitud entre dos comunidades

Métodos



- **Edad**
- **Sexo**
- **Factores de riesgo** (hipertensión, dislipidemia, diabetes, fibrilación auricular, cardiopatía isquémica, tabaquismo, consumo de alcohol)
- **Medicación** (antiagregantes plaquetarios, anticoagulantes orales, estatinas)
- **Tratamiento de reperfusión**
- **Subtipo de ictus**
- Uso de **enema** y consistencia de las heces medida con ***Bristol Stool Scale***

Bonferroni $p < 0.05$

La disbiosis de la microbiota intestinal se asocia con un mayor riesgo de ictus isquémico

156 pacientes con ictus isquémico vs 19 controles

Central Nervous System and the Colonic Bioreactor:
Analysis of Colonic Microbiota in Patients with Stroke
Unravels Unknown Mechanisms of the Host Defense
after Brain Injury

doi: 10.5217/ir.2012.10.4.332

**Higher Risk of Stroke Is Correlated
With Increased Opportunistic
Pathogen Load and Reduced Levels
of Butyrate-Producing Bacteria in the
Gut**

doi: 10.3389/fcimb.2019.00004

Family	p value
<i>Lactobacillaceae</i>	4.24×10^{-12}
<i>Pseudomonadaceae</i>	1.15×10^{-7}
<i>Streptococcaceae</i>	9.58×10^{-7}
<i>Enterococcaceae</i>	4.20×10^{-6}
<i>Enterobacteriaceae</i>	6.49×10^{-5}
<i>Leptotrichiaceae</i>	6.05×10^{-10}
<i>Staphylococcaceae</i>	3.16×10^{-6}

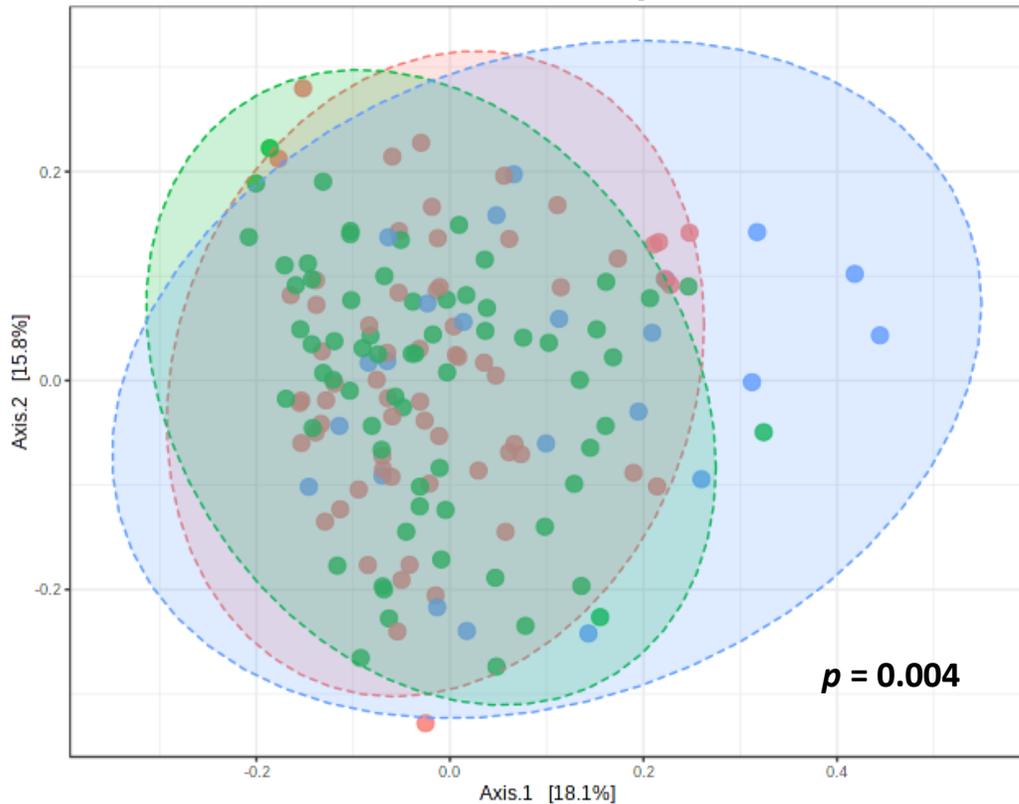
Genus	p value
<i>Lactobacillus</i>	1.78×10^{-12}
<i>Pseudomonas</i>	7.70×10^{-7}
<i>Streptococcus</i>	8.88×10^{-7}
<i>Staphylococcus</i>	9.62×10^{-7}
<i>Klebsiella</i>	1.01×10^{-6}
<i>Fusobacterium</i>	2.92×10^{-5}

Species	p value
<i>Streptococcus anginosus</i>	9.71×10^{-8}
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	1.04×10^{-4}

La disbiosis de la microbiota intestinal se asocia con la gravedad del ictus isquémico en la fase aguda

156 pacientes con ictus isquémico
NIHSS basal: 65 leve vs 68 moderado vs 23 severo

Diversidad β



-  Ictus leve (basal)
-  Ictus moderado (basal)
-  Ictus severo(basal)

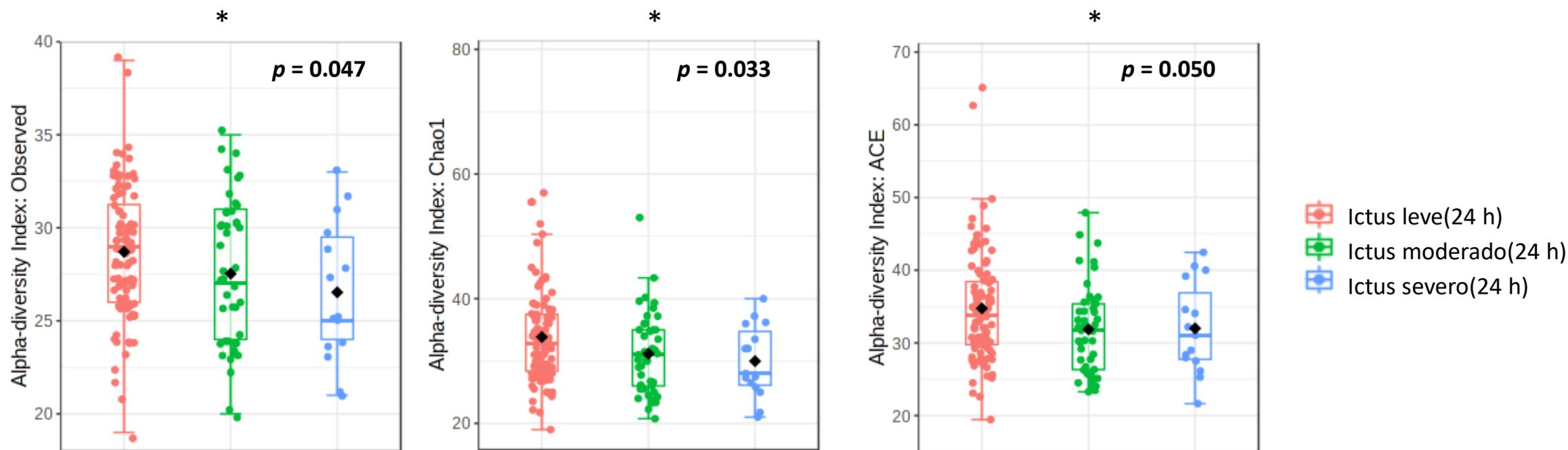
Genus	p value
<i>Robinsoniella</i>	5.10×10^{-9}
<i>Clostridioides</i>	1.80×10^{-6}
<i>Synergistes</i>	3.27×10^{-6}
<i>Staphylococcus</i>	1.07×10^{-5}
<i>Tyzzarella</i>	1.56×10^{-5}

Species	p value
<i>Staphylococcus aureus</i>	9.17×10^{-8}
<i>Clostridioides difficile</i>	1.73×10^{-7}
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	8.31×10^{-6}
<i>Parabacteroides distasonis</i>	4.78×10^{-5}

Los patógenos oportunistas se asocian a una mayor gravedad del ictus en el momento basal

La disbiosis de la microbiota intestinal se asocia con la gravedad del ictus isquémico en la fase aguda

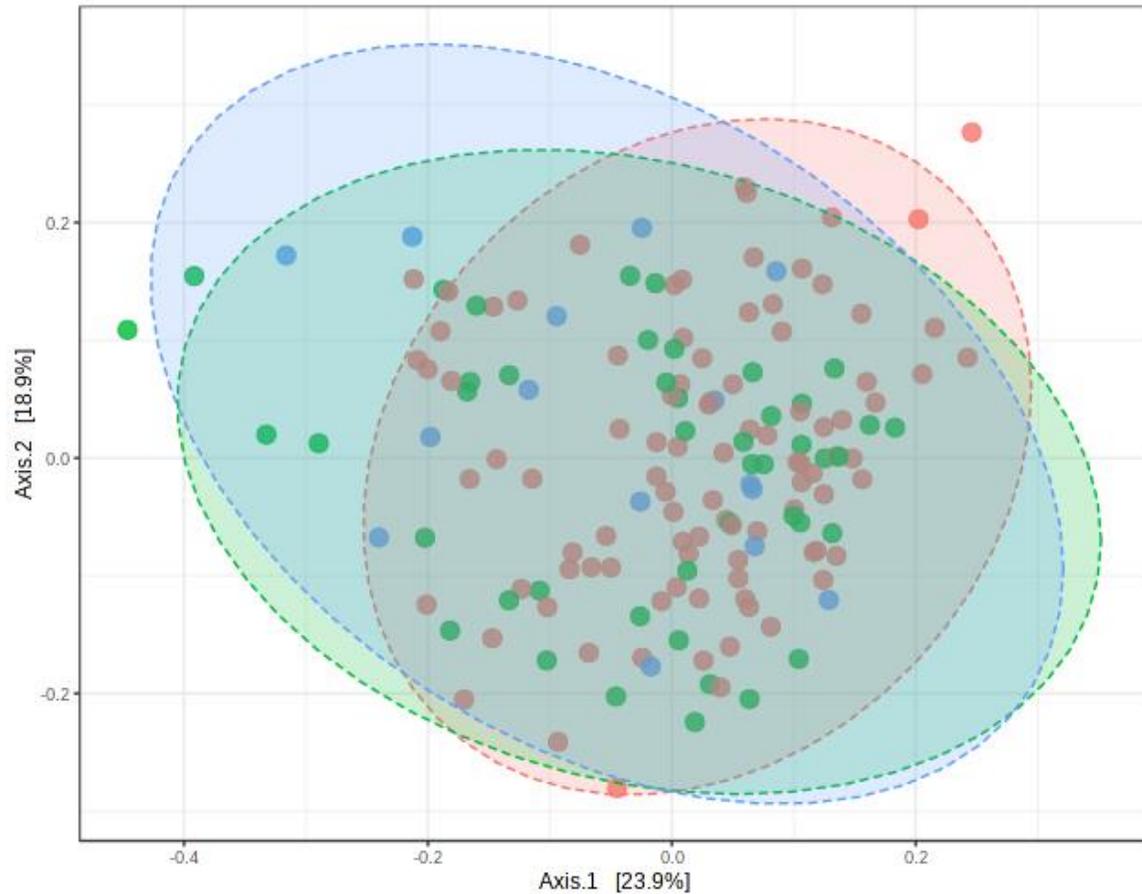
156 pacientes con ictus isquémico
24 h post-ictus: 96 leve vs 45 moderado vs 15 severo



↑ Riqueza de especies en pacientes con ictus con menor gravedad de ictus a las 24 h después del ictus

La disbiosis de la microbiota intestinal se asocia con la gravedad del ictus isquémico en la fase aguda

Severidad del ictus a las 24 h



-  Ictus leve(24 h)
-  Ictus moderado(24 h)
-  Ictus severo(24 h)

Genus	<i>p</i> value
<i>Robinsoniella</i>	1.80×10^{-12}
<i>Faecalibaculum</i>	2.87×10^{-5}
<i>Anaerococcus</i>	4.49×10^{-5}
<i>Anaeroplasma</i>	7.21×10^{-5}

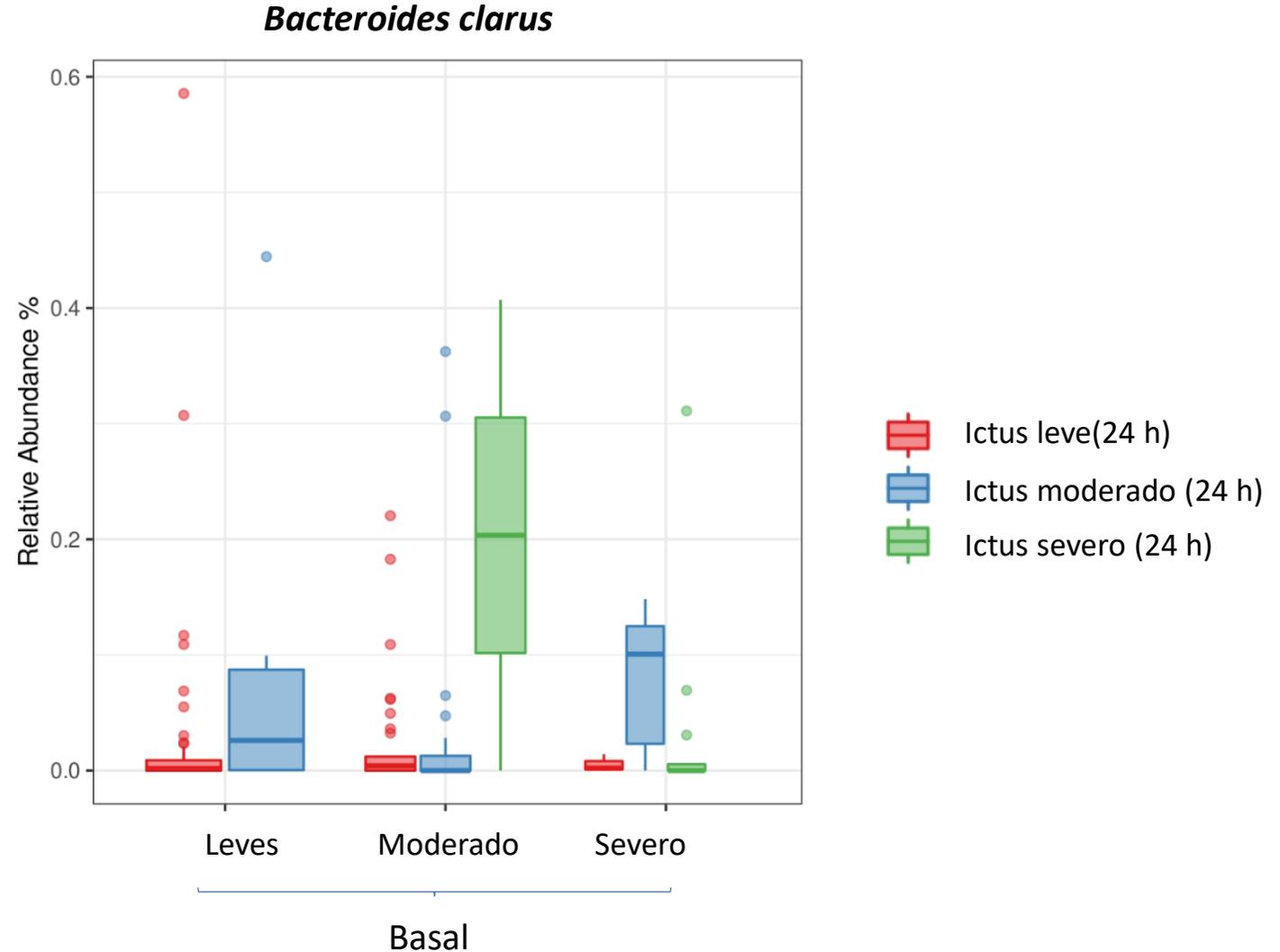
Species	<i>p</i> value
<i>Anaerotruncus</i> sp. AT3	1.76×10^{-5}
<i>Clostridioides difficile</i>	1.14×10^{-4}

La disbiosis de la microbiota intestinal se asocia con la gravedad del ictus isquémico en la fase aguda

Severidad basal / Severidad 24 h post-ictus

Genus	p value
<i>Pseudobutyrvibrio</i>	$< 1.00 \times 10^{-300}$
<i>Klebsiella</i>	2.89×10^{-9}
<i>Robinsoniella</i>	6.16×10^{-6}

Species	p value
<i>Bacteroides clarus</i>	$< 1.00 \times 10^{-300}$
<i>Bifidobacterium animalis</i>	3.13×10^{-274}
<i>Bacteroides salversiae</i>	6.14×10^{-229}
<i>Pseudobutyrvibrio sp. CA38</i>	2.43×10^{-94}
<i>Bacteroides dorei</i>	1.45×10^{-14}



La disbiosis de la microbiota intestinal se asocia con la gravedad del ictus isquémico en la fase aguda

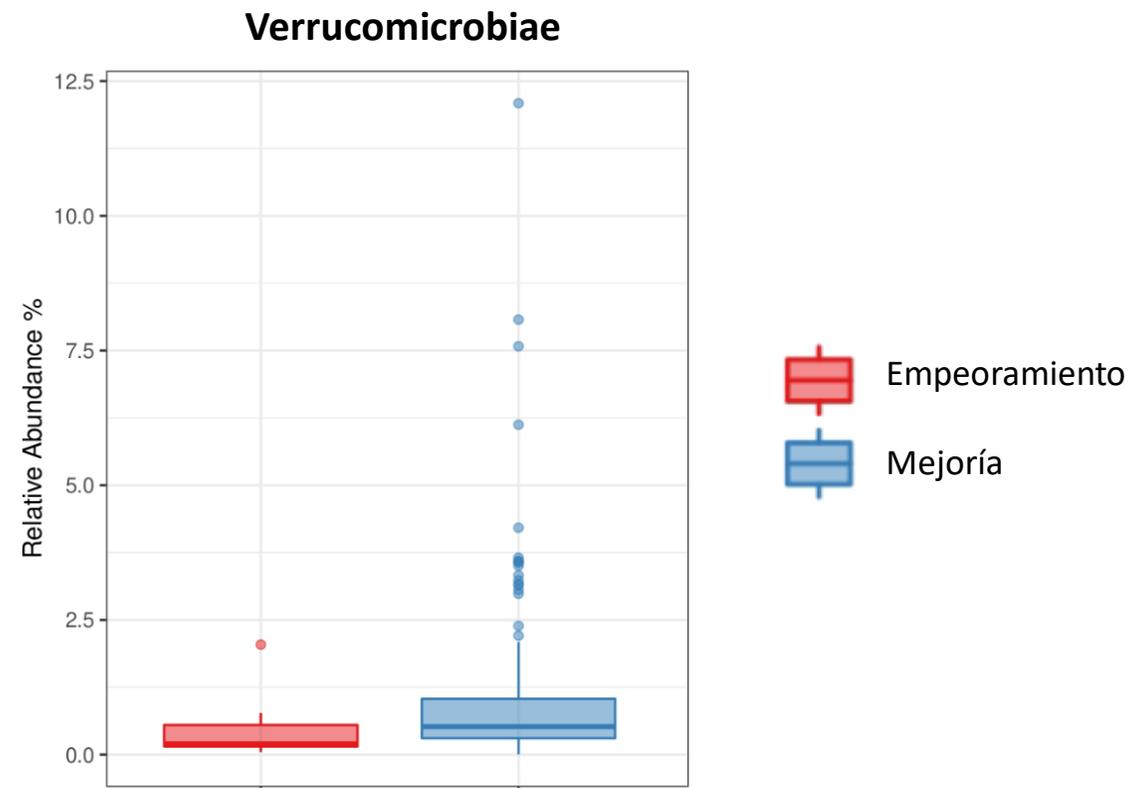
156 pacientes con ictus isquémico
 Δ NIHSS: 144 mejoría vs 12 empeoramiento

Class	<i>p</i> value
Verrucomicrobiae	1.93×10^{-3}

Genus	<i>p</i> value
<i>Peptostreptococcus</i>	2.67×10^{-5}

↑ Bacterias beneficiosas en pacientes con mejoría

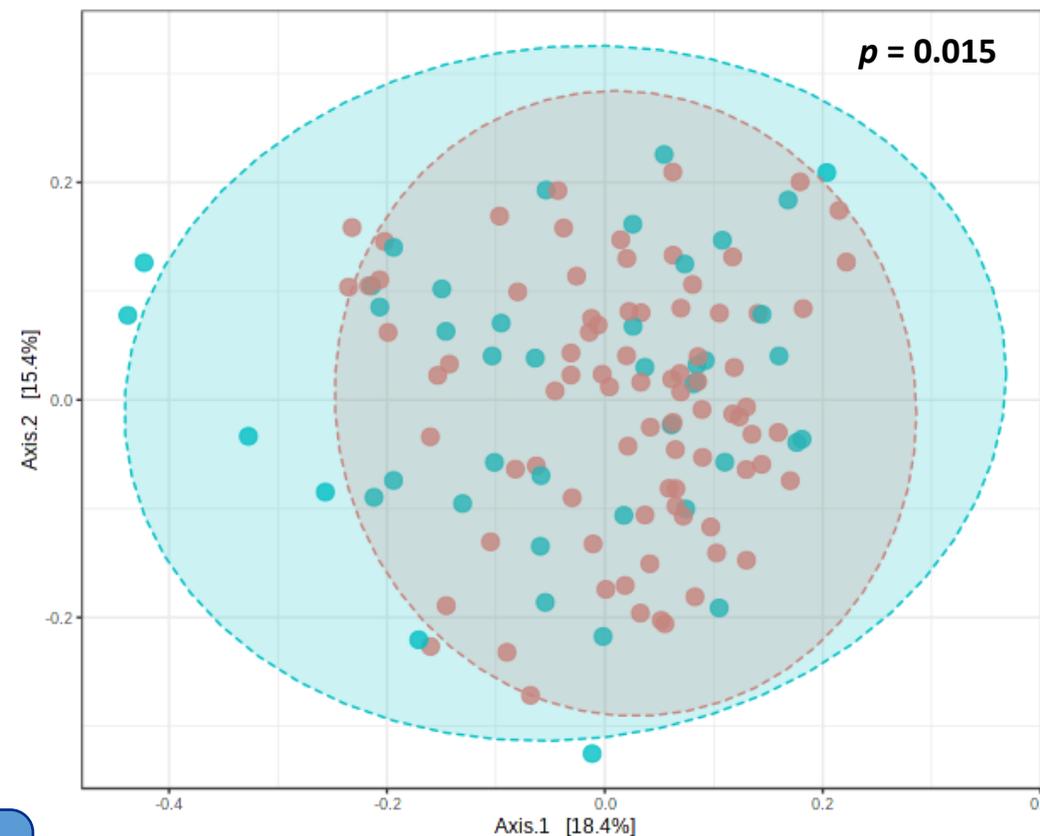
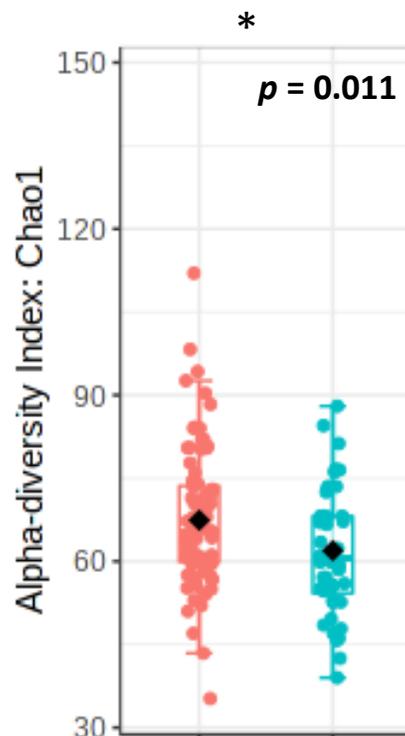
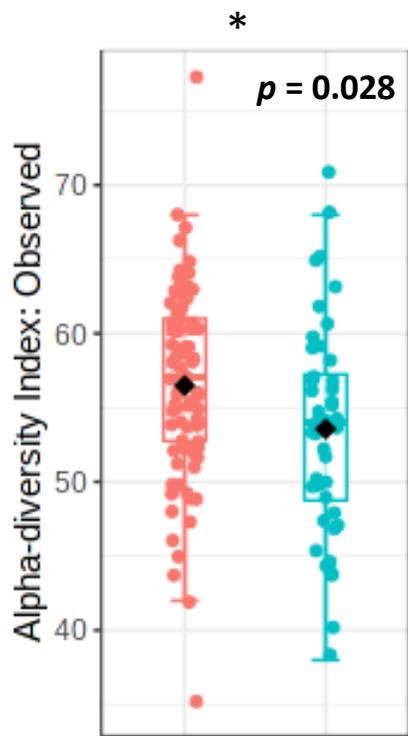
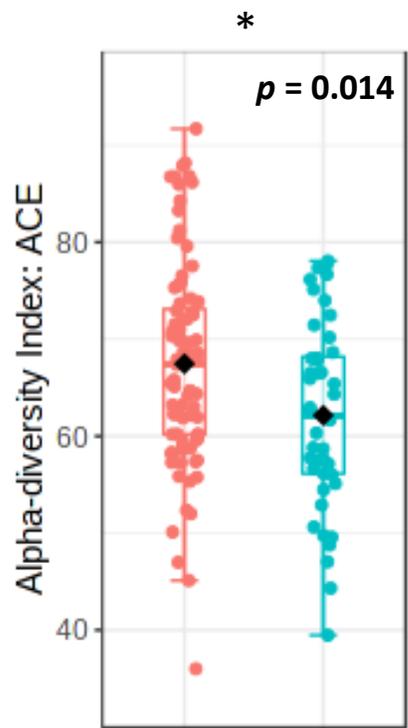
↑ Patógenos oportunistas en pacientes que empeoran



La disbiosis de la microbiota intestinal se asocia con la evolución funcional a los 3 meses

-  Buen pronóstico
-  Mal pronóstico

128 pacientes con ictus isquémico
84 buen pronóstico vs 44 mal pronóstico



 Riqueza de especies en pacientes de ictus con resultado favorable a los 3 meses

-  Buen pronóstico
-  Mal pronóstico

La disbiosis de la microbiota intestinal se asocia con la evolución funcional a los 3 meses

Phylum	<i>p</i> value
Synergistetes	5.52×10^{-5}
Acidobacteria	2.76×10^{-4}

Class	<i>p</i> value
Synergistia	3.26×10^{-5}

Order	<i>p</i> value
Synergistales	3.14×10^{-5}
Pseudomonadales	1.56×10^{-4}

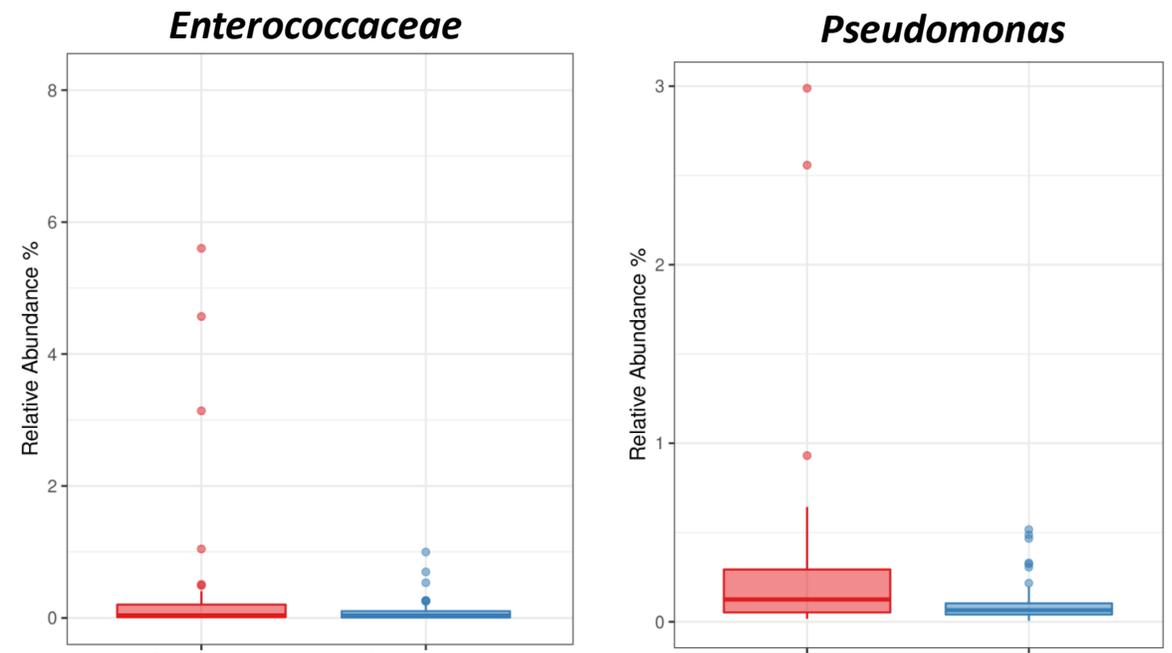
Family	<i>p</i> value
<i>Synergistaceae</i>	3.65×10^{-5}
<i>Pseudomonadaceae</i>	4.40×10^{-5}
<i>Enterococcaceae</i>	4.49×10^{-4}

Genus	<i>p</i> value
<i>Pseudomonas</i>	7.47×10^{-6}
<i>Enterococcus</i>	2.11×10^{-4}

Species	<i>p</i> value
<i>Pseudomonas moraviensis</i>	1.70×10^{-4}

↑ Patógenos oportunistas en pacientes con mal pronóstico a los 3 meses

 Mal pronóstico
 Buen pronóstico

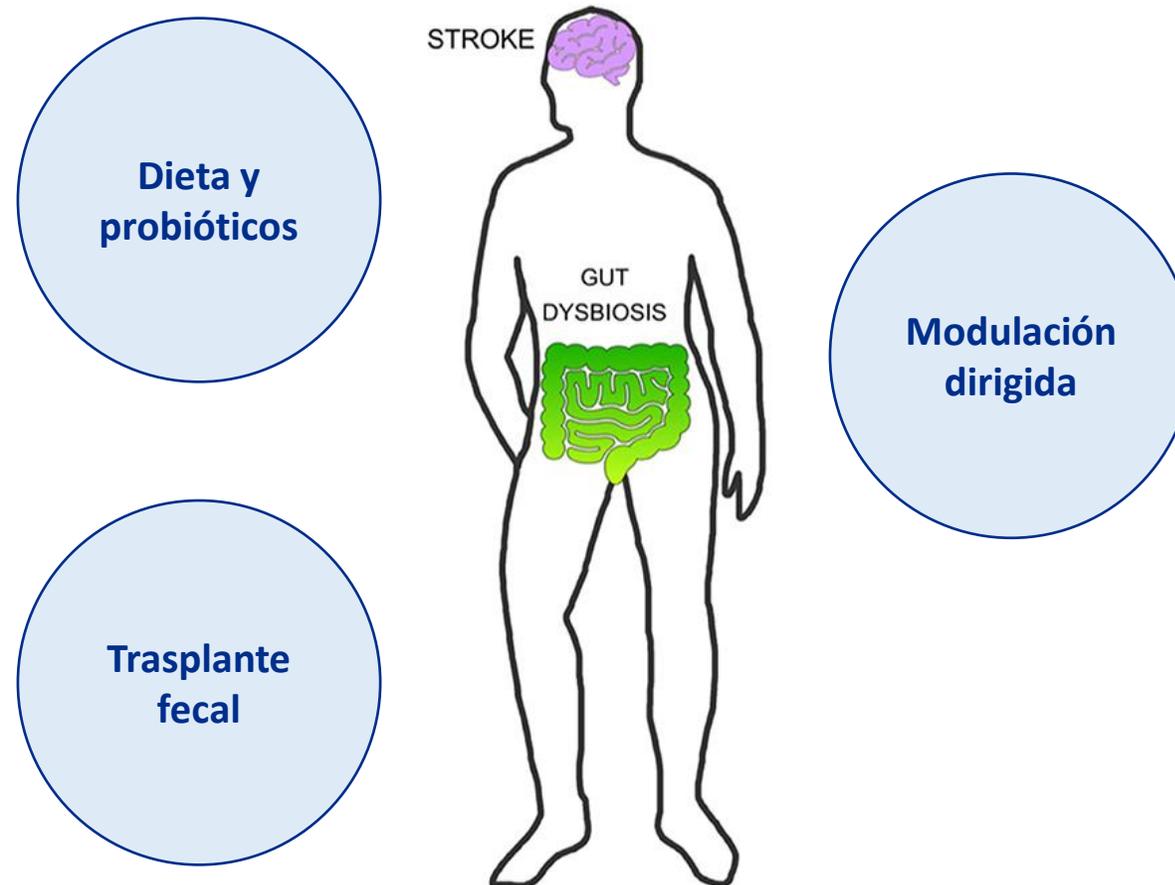


Conclusiones

- Hemos encontrado **disbiosis intestinal** asociada a la **gravedad del ictus** y al **resultado a largo plazo** después del ictus.
- Hemos encontrado **múltiples perfiles taxonómicos nuevos** asociados con el **riesgo de ictus isquémico** y el **resultado agudo y a largo plazo** después del ictus isquémico.

Nuevos enfoques y estrategias

El microbioma intestinal podría ser un factor importante asociado al riesgo de ictus isquémico y a la evolución a corto y a largo plazo después del ictus



Battaglini D, Pimentel-Coelho PM, Robba C, et al. Gut Microbiota in Acute Ischemic Stroke: From Pathophysiology to Therapeutic Implications. *Front Neurol.* 2020;11:598. Published 2020 Jun 25. doi:10.3389/fneur.2020.00598

Gracias por vuestra atención,

Miquel Lledós – mlledos@santpau.cat

Institut d'Investigació Biomèdica Sant Pau

- Jara Cárcel-Márquez
- Elena Muiño
- Cristina Gallego-Fabrega
- Natalia Cullell
- Laia Llucià-Carol
- Jesús M. Martín-Campos
- Israel Fernández-Cadenas (PI)

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau

- Luís Prats-Sánchez
- Pol Camps-Renom
- Joan Martí-Fàbregas

