

Estudio del papel de las proteínas RhoA y XDH en la hemorragia intracerebral mediante el desarrollo de un modelo *in vitro*

Clara Correa Paz



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SANITARIA
SANTIAGO DE COMPOSTELA

Dolores Piniella Alcalde



UAM Universidad Autónoma
de Madrid

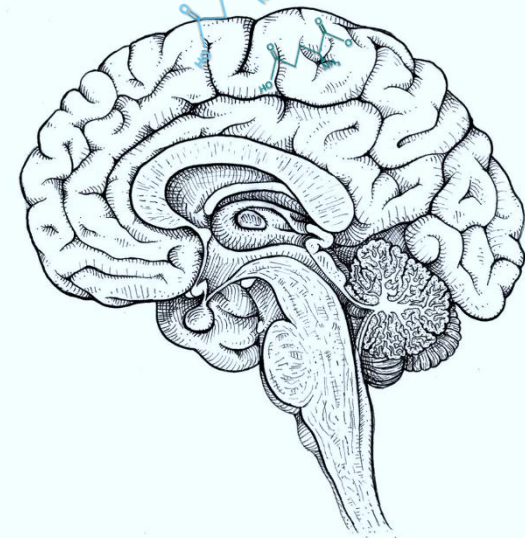
Emma Martínez Alonso



IRYCIS


Fondos Semilla “Dr. Miguel Blanco”

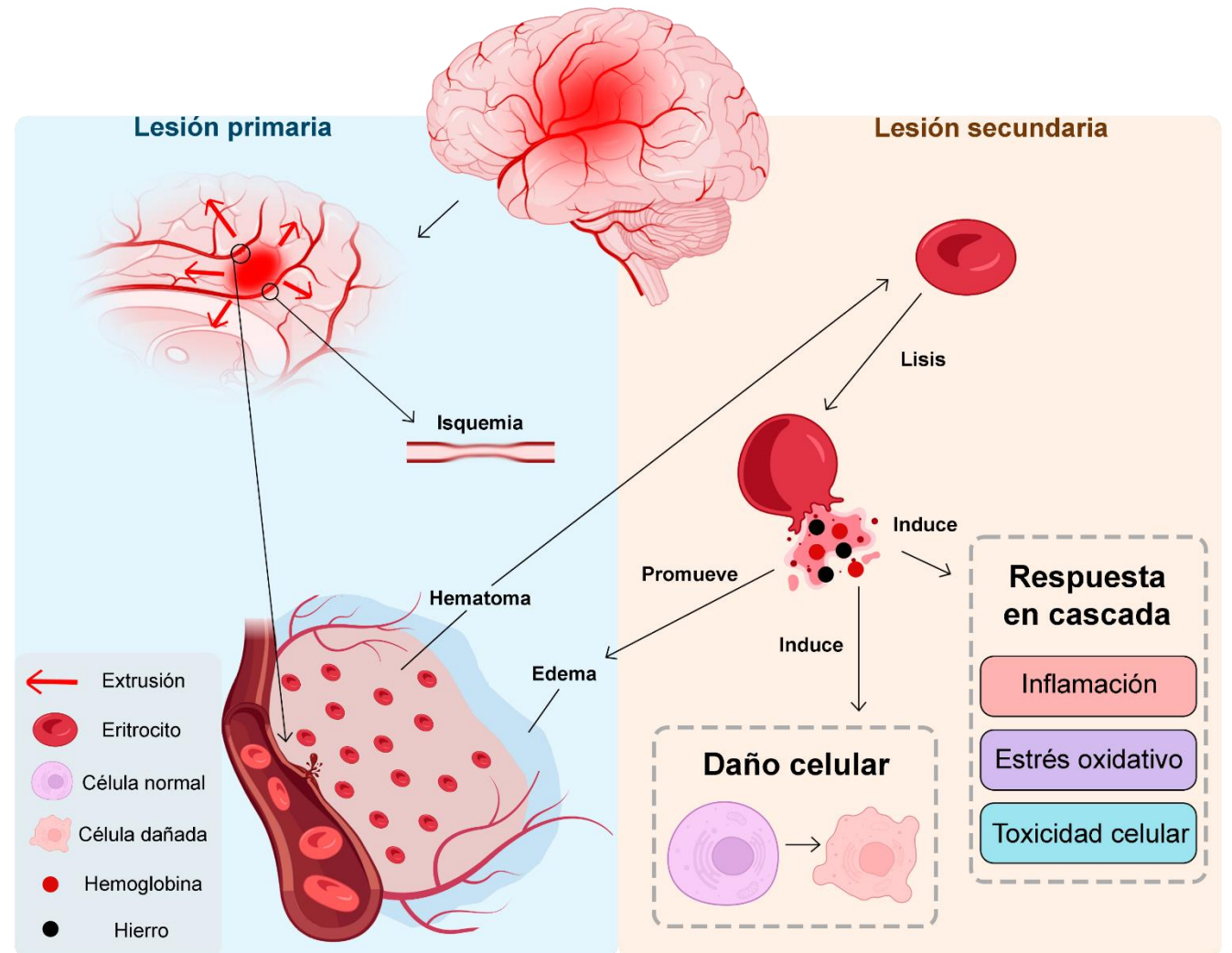
23 de marzo de 2023



Introducción


La hemorragia intracerebral (HIC)

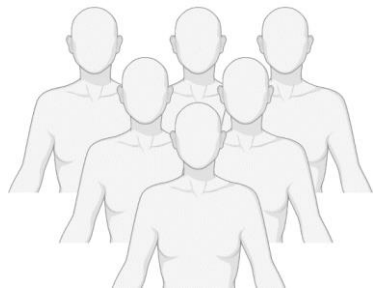
- 20% del total de ictus
-  3,4 millones de nuevos casos cada año
- 11.186 nuevos casos cada año en España
- Incidencia de 10-15 casos cada 100.000 personas



Introducción

Proteómica de pacientes con HIC

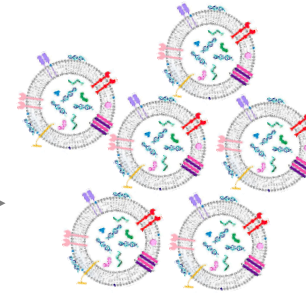
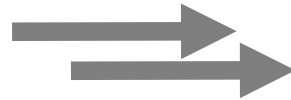
- ISCI - PI20/00243, Dra. María Alonso de Leciñana y Dra. María Gutiérrez 



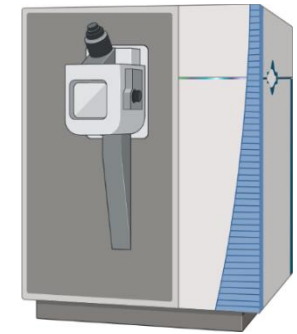
Cohorte: 45 pacientes



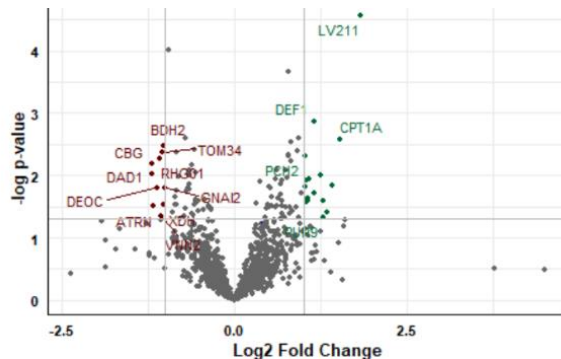
Sangre de pacientes a 24h y 7d



Vesículas extracelulares extraídas de suero de pacientes



Proteómica de las vesículas extracelulares
Colab. Susana Bravo, IDIS

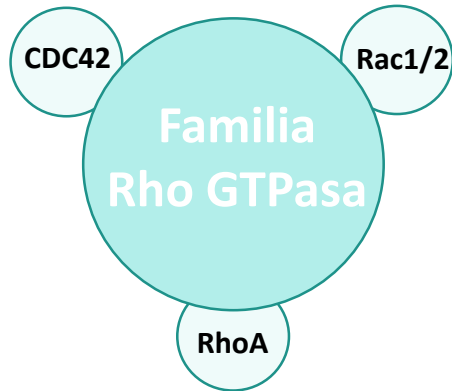


Análisis de la proteómica

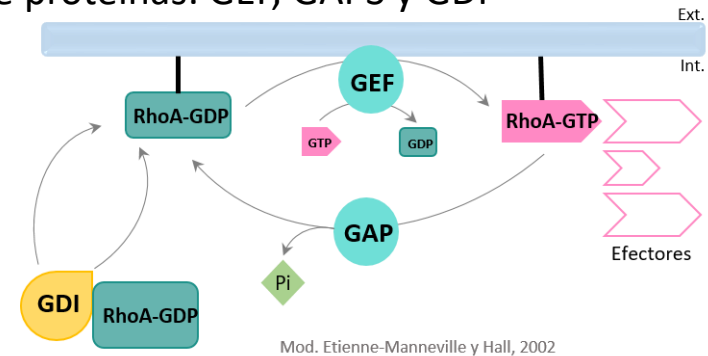


GTPasa RhoA

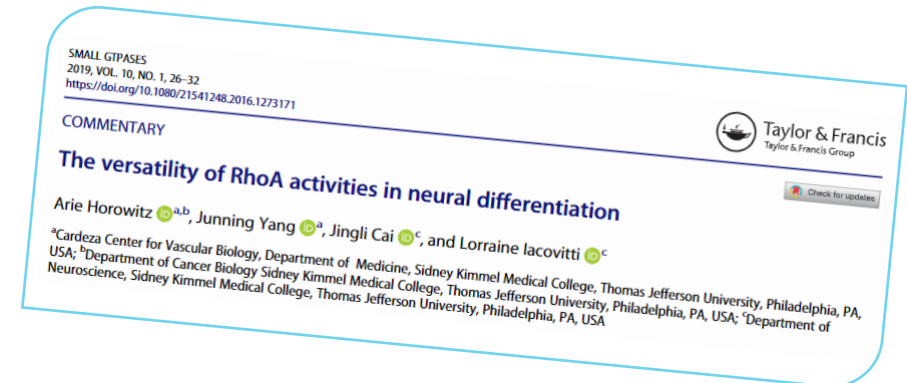
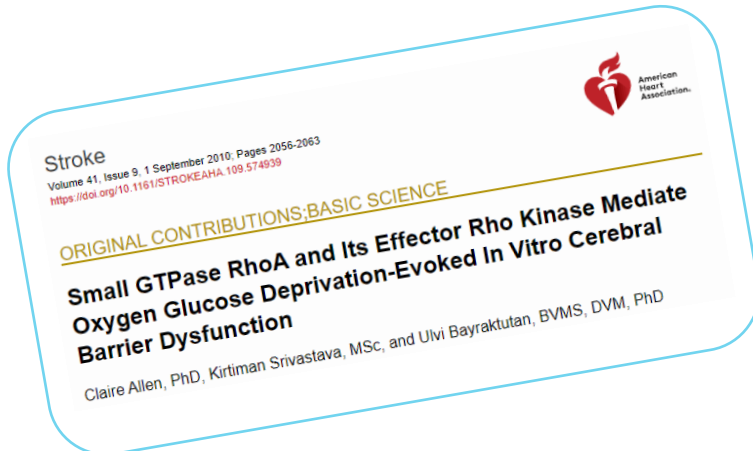
- Controlan la organización del citoesqueleto de actina, el tráfico vesicular, la endocitosis y la proliferación celular



- RhoA, circula entre una conformación activa y una inactiva. En estado activo, interactúa con una de las proteínas diana. El ciclo está altamente regulado por tres clases de proteínas: GEF, GAPS y GDI

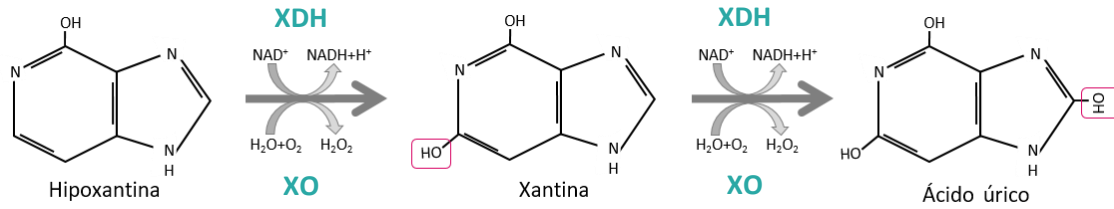


Mod. Etienne-Manneville y Hall, 2002

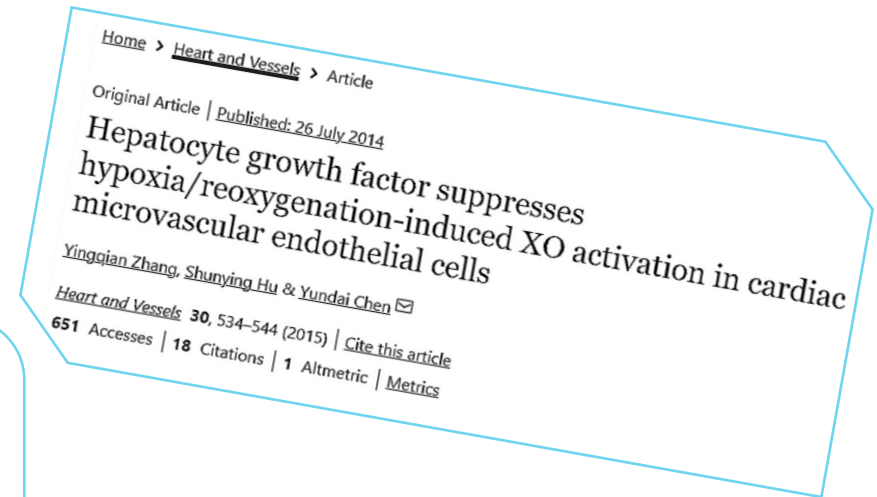
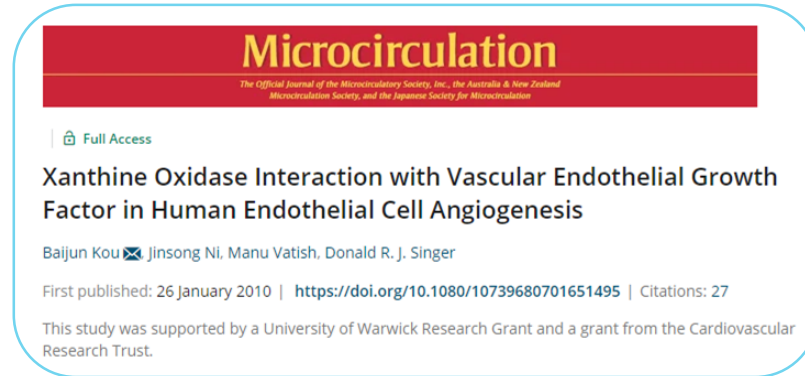
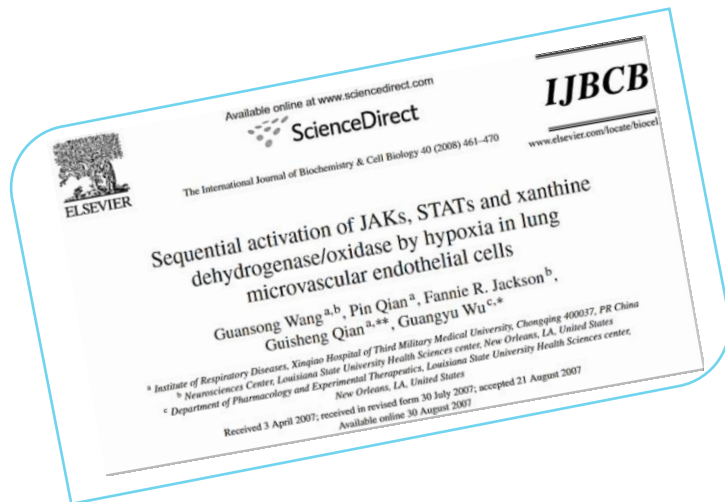


Xantina deshidrogenasa (XDH)

- Enzima clave en la degradación de purinas. Cataliza la oxidación de hipoxantina a xantina y ácido úrico



- Contribuye a la activación de p38/MAPK, regula negativamente la fosforilación de proteínas, la diferenciación de células endoteliales y la vía de señalización de VEGF

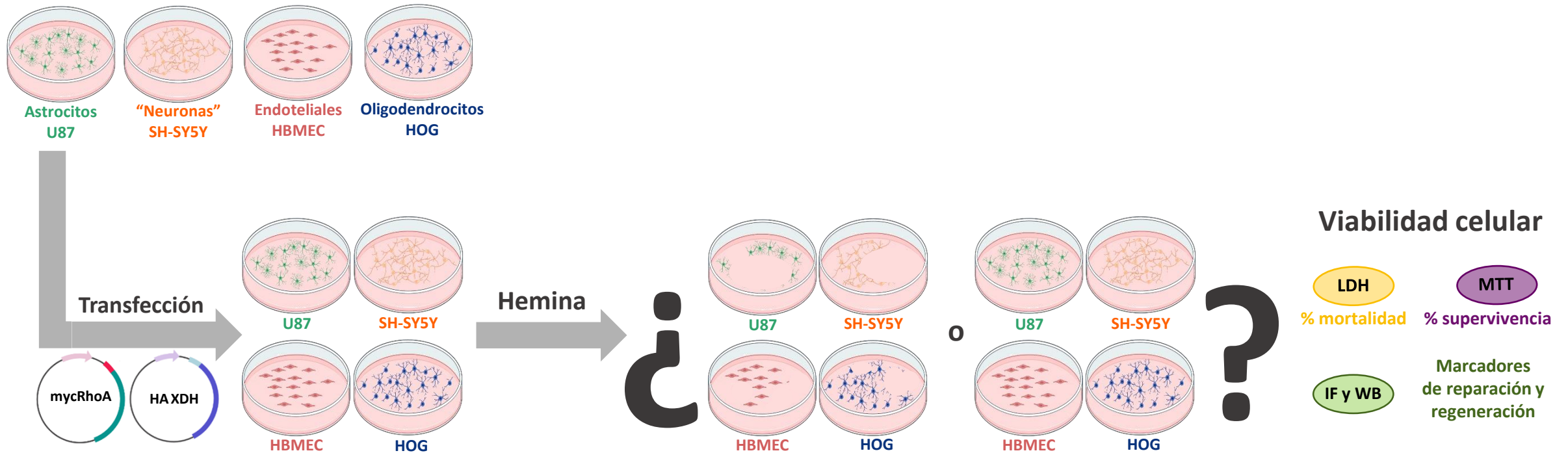


Objetivo

- Estudiar la implicación de las proteínas **RhoA y XDH** en procesos de daño y reparación celular en un **modelo *in vitro* de hemorragia**.

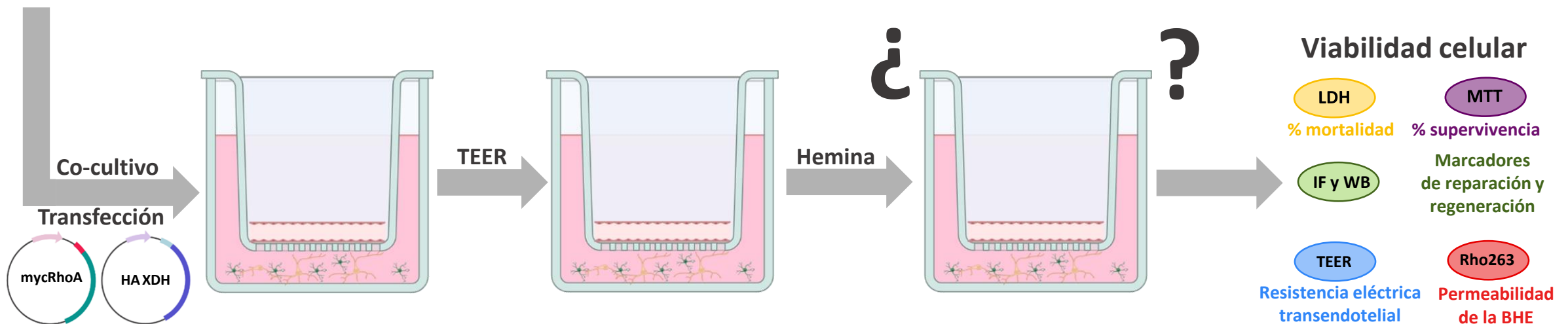
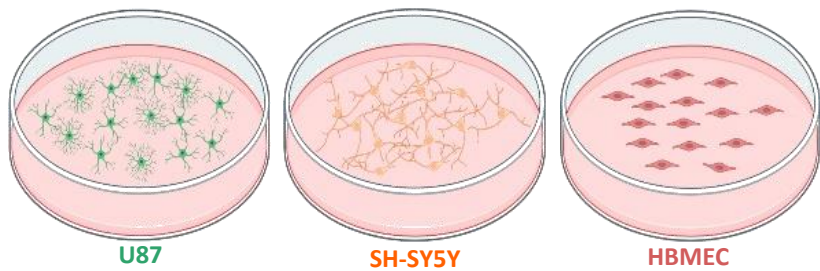
Modelo *in vitro* de líneas celulares independientes

- Evaluación de la viabilidad celular y marcadores de reparación en presencia de las proteínas de interés y daño celular inducido por hemina



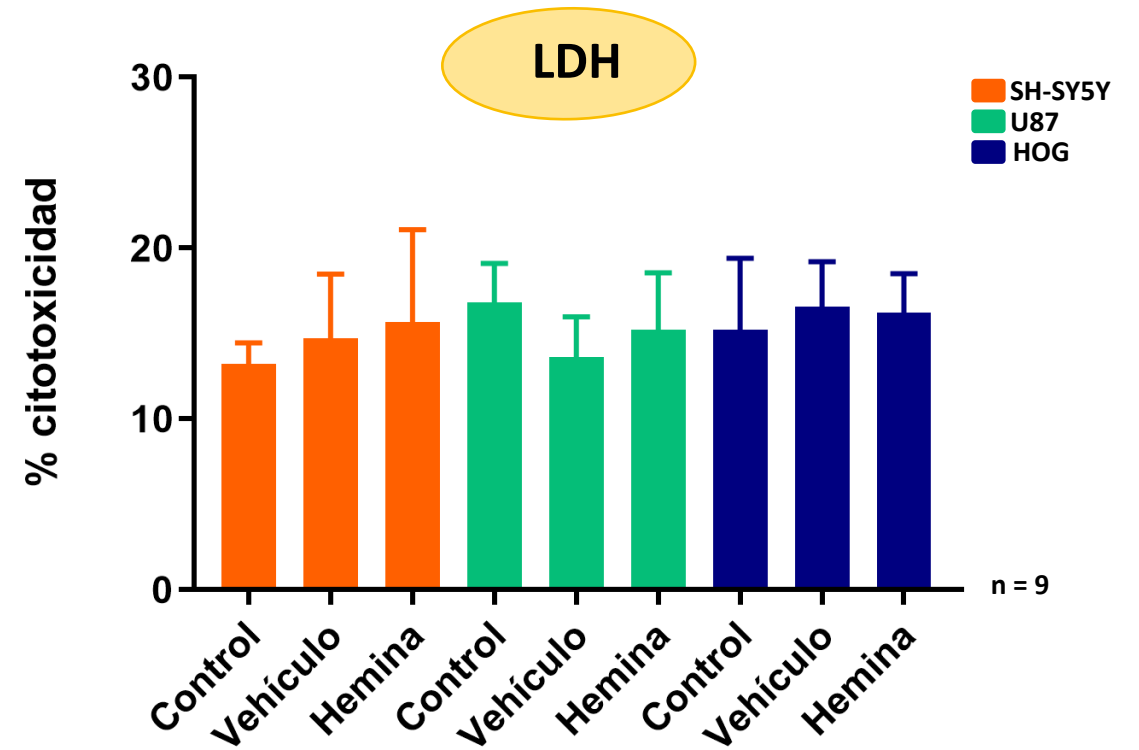
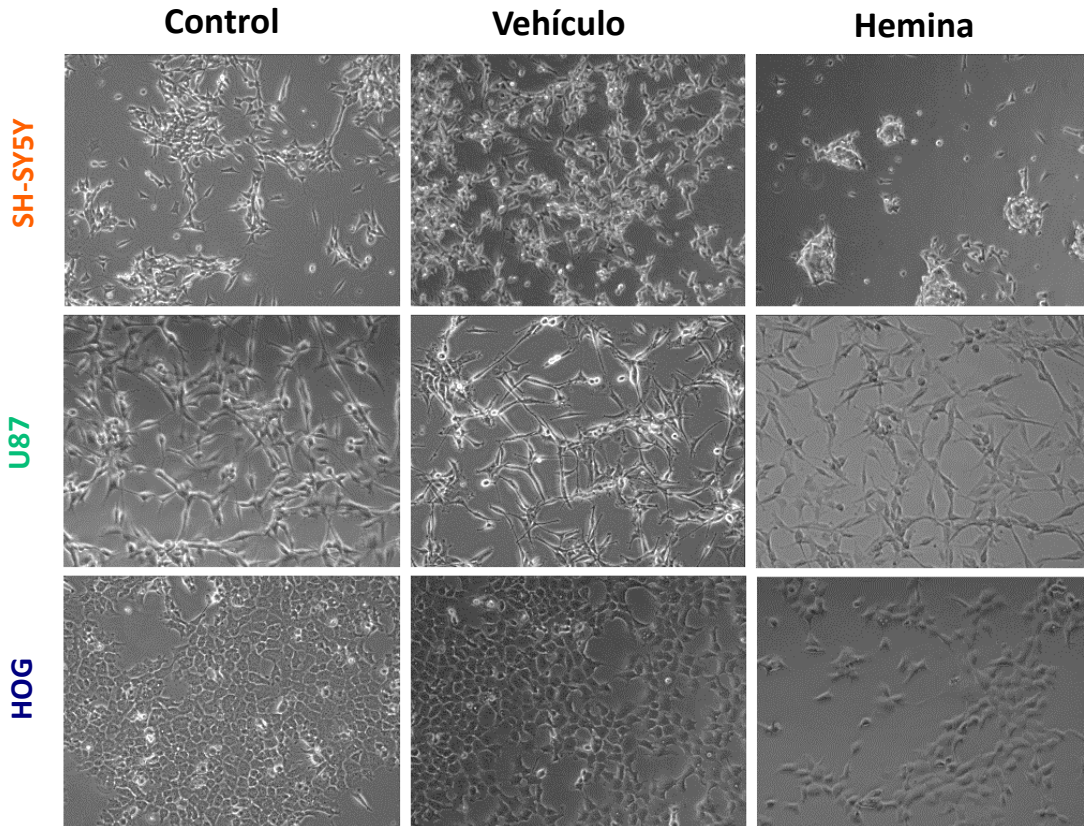
Modelo de barrera hematoencefálica (BHE)

- Evaluación de la viabilidad celular, marcadores de reparación, resistencia eléctrica transendotelial (TEER) y permeabilidad de la BHE en presencia de las proteínas de interés y daño celular inducido por hemina



Estado actual y plan de contingencia

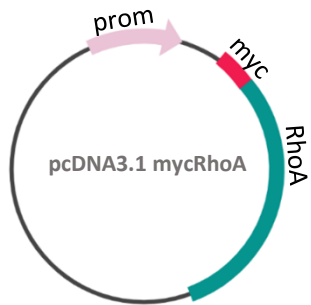
○ Optimización del modelo *in vitro*



Estado actual y plan de contingencia

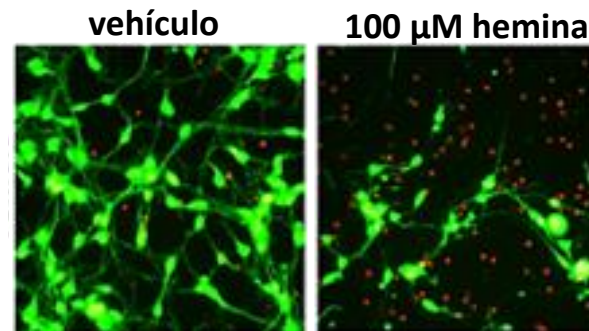
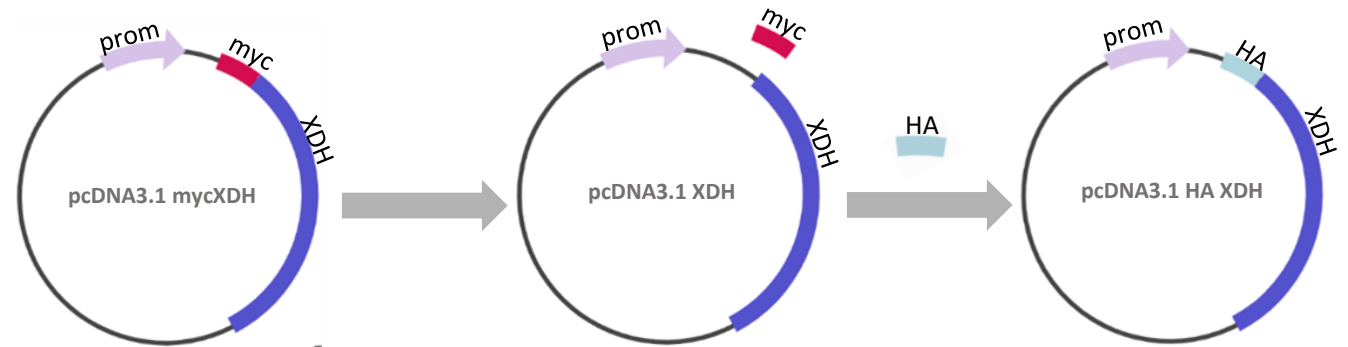
- **Clonación del vector de expresión pcDNA3.1 myc XDH**

Colab. Francisco Zafra, CBMSO-UAM



- **Plan de contingencia**

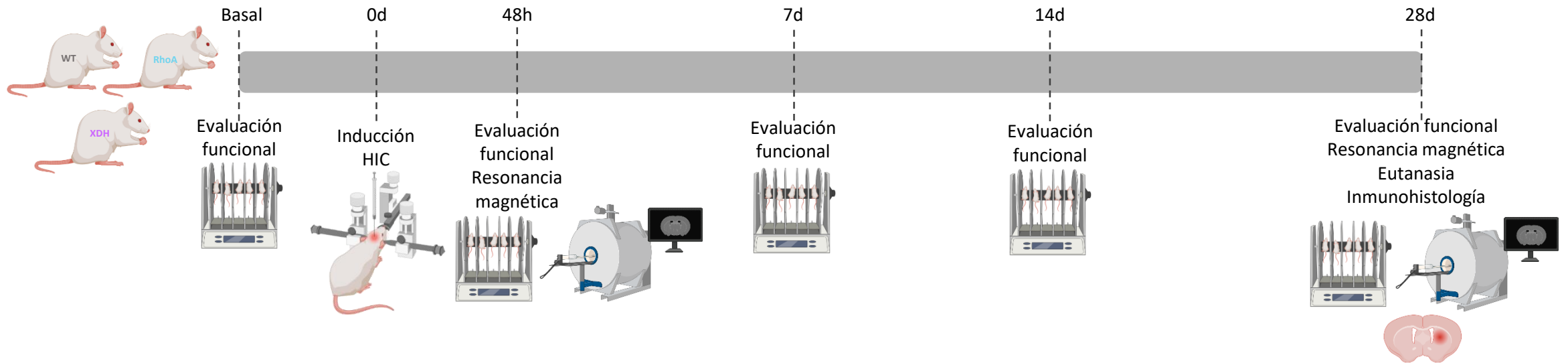
- Cambio de líneas celulares
- Desarrollo del modelo en cultivos primarios



Perspectivas futuras

○ Modelo animal de HIC

- Administración dirigida de las proteínas de interés ?
- Knock in, Knock out



Laboratorio de Ciencias Neurológicas



M Gutiérrez (PhD) L Otero (PhD) MC Gómez (PhD) L Piniella (PhD) F Laso (Pre-PhD)



R Gallego (Pre-PhD) MP López (Pre-PhD) J Pozo (Pre-PhD) I García (MD)

Laboratorio de Imagen



P López (PhD) T Navarro (Técnico)

Grupo: RD21/0006/0003



Grupo: RD21/0006/0012

Servicio de Neurología, Centro de Ictus



B Fuentes (MD, PhD) M Alonso (MD, PhD) G Ruiz (MD, PhD) J Rodríguez (MD, PhD)



E Alonso (MD, PhD) R Rigual (MD) L Casado (MD, pre-PhD) E de Celis (MD, pre-PhD)



P Franco (Jefa de Enf.) S Calcedo (Enf.)



Prof. Exuperio Díez Tejedor
 Director (MD, PhD)

Neurorradiología



R Frutos (MD) A Fernández (MD) B Martín (MD) P Navia (MD)

Neurocirugía



A Gómez (MD) B Hernández (MD)

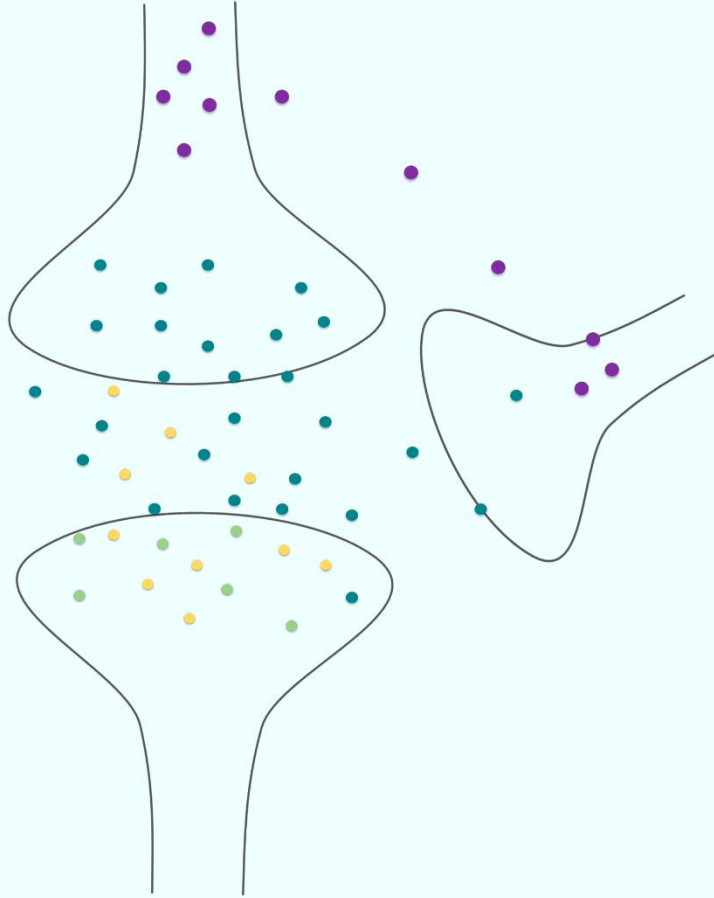
Neurorehabilitación



S Moraleda (MD) D Hernández (MD)

Grupo: RD21/0006/0019





MUCHAS GRACIAS