

## Stroke

### BRIEF REPORT

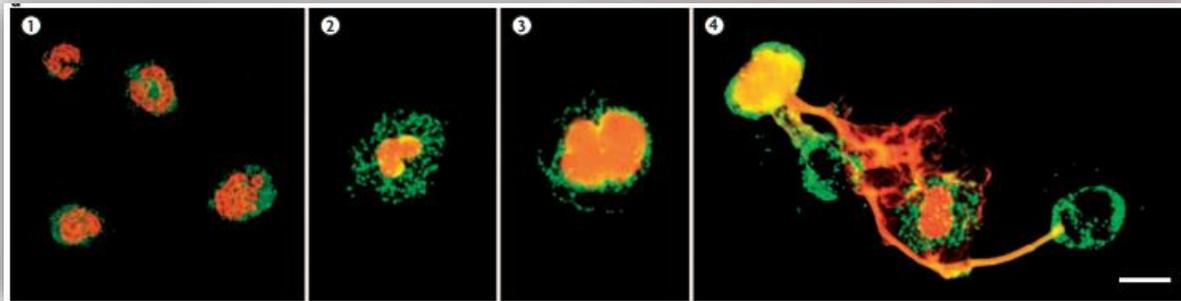
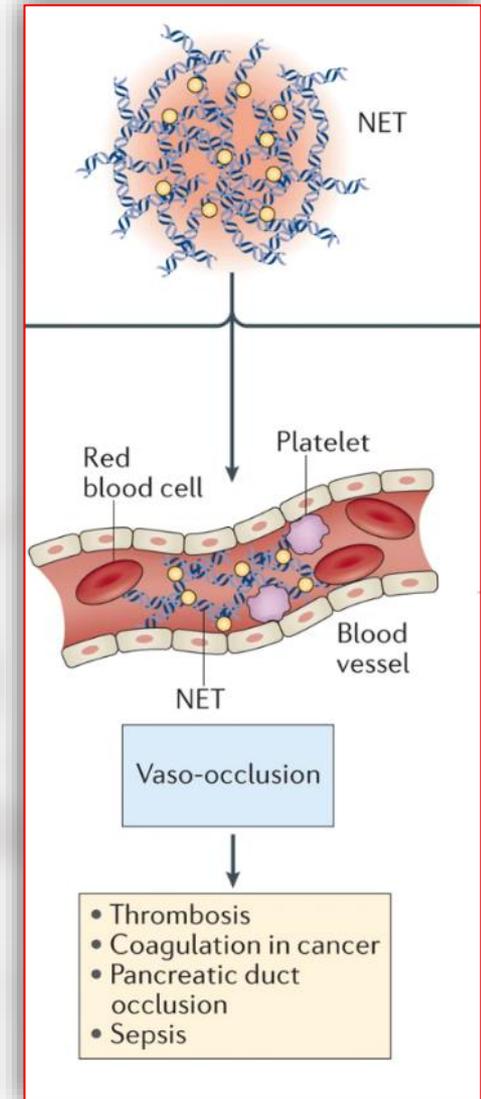
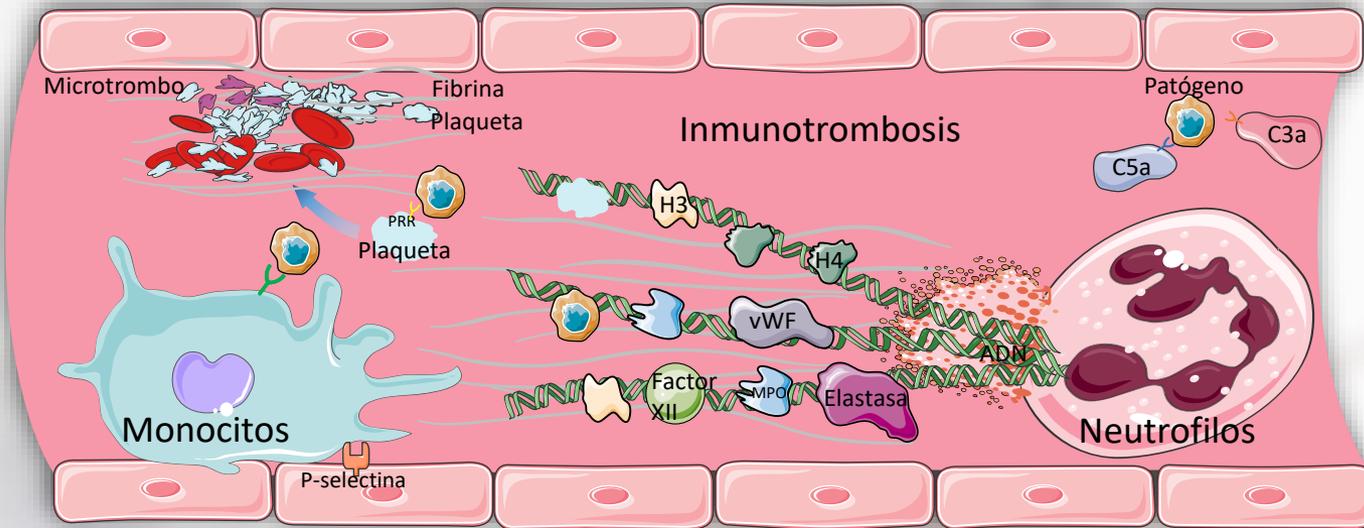
# Daytime DNase-I Administration Protects Mice From Ischemic Stroke Without Inducing Bleeding or tPA-Induced Hemorrhagic Transformation, Even With Aspirin Pretreatment

Gaohong Di, MD, PhD\*; Sandra Vázquez-Reyes , BSc\*; Blanca Díaz , BSc; Carolina Peña-Martinez , PhD; Alicia García-Culebras , PhD; María I. Cuartero , PhD; Ana Moraga , PhD; Jesús M. Pradillo , PhD; Elga Esposito, PhD; Eng H. Lo , PhD; María A. Moro , PhD; Ignacio Lizasoain , MD, PhD

*Stroke*. 2024;56:00–00. DOI: 10.1161/STROKEAHA.124.049961 February 2025

13, ENERO 2025

# Inmunotrombosis



Ventana terapéutica

Limitaciones

Trombolítico  
(t-PA)

0 - 4.5  
horas

- **Tasas bajas de recanalización (<50%)**
- Transformación Hemorrágica (TH)
- 4,5 a 9h (comprobar con imagen avanzada)



Criterios absolutos y relativos (**10-35% de los pacientes**), se excluyen:

- Pacientes mayores de 80 años
- Diabéticos o con hiperglucemia
- Hipertensos
- Tratados con anticoagulantes
- Con historia previa de ictus, lesión extensa o con efecto de masa
- Los que superen las 4,5 horas

Endovascular  
trombectomía

0 - 6  
horas

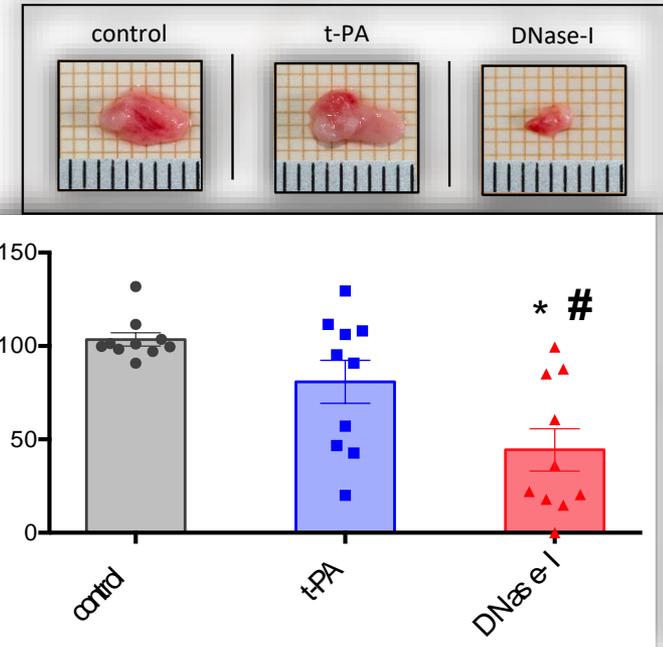
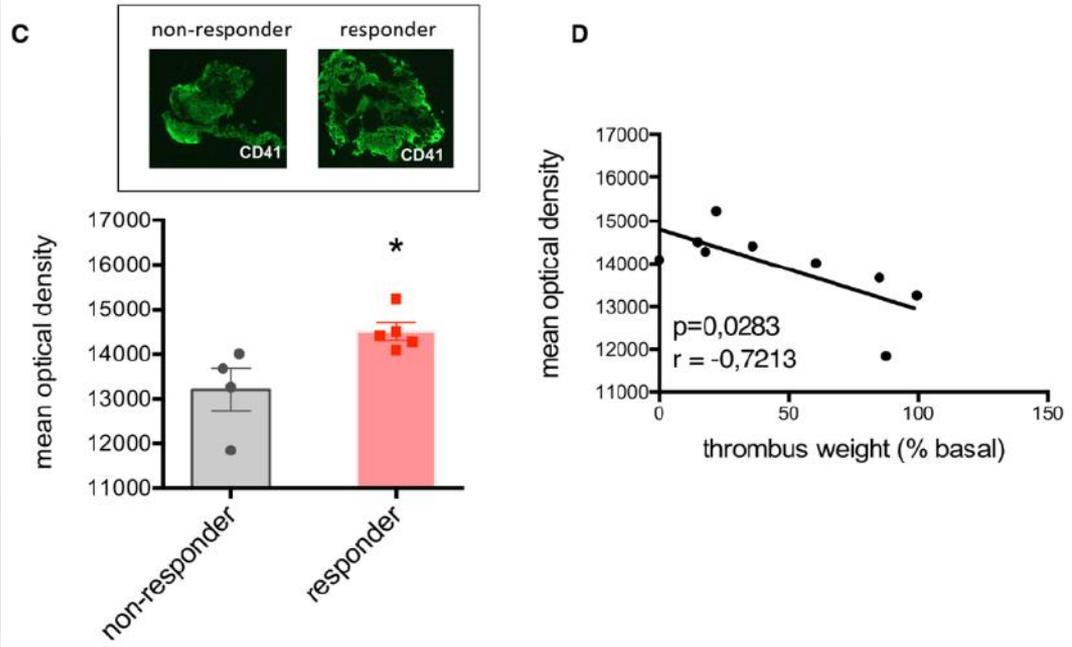
- Oclusión de grandes vasos
- Neurorradiólogo intervencionista calificado
- Infraestructura de alto costo
- 6 a 24h (comprobar con imagen avanzada)

# Pharmacological Modulation of Neutrophil Extracellular Traps Reverses Thrombotic Stroke tPA (Tissue-Type Plasminogen Activator) Resistance

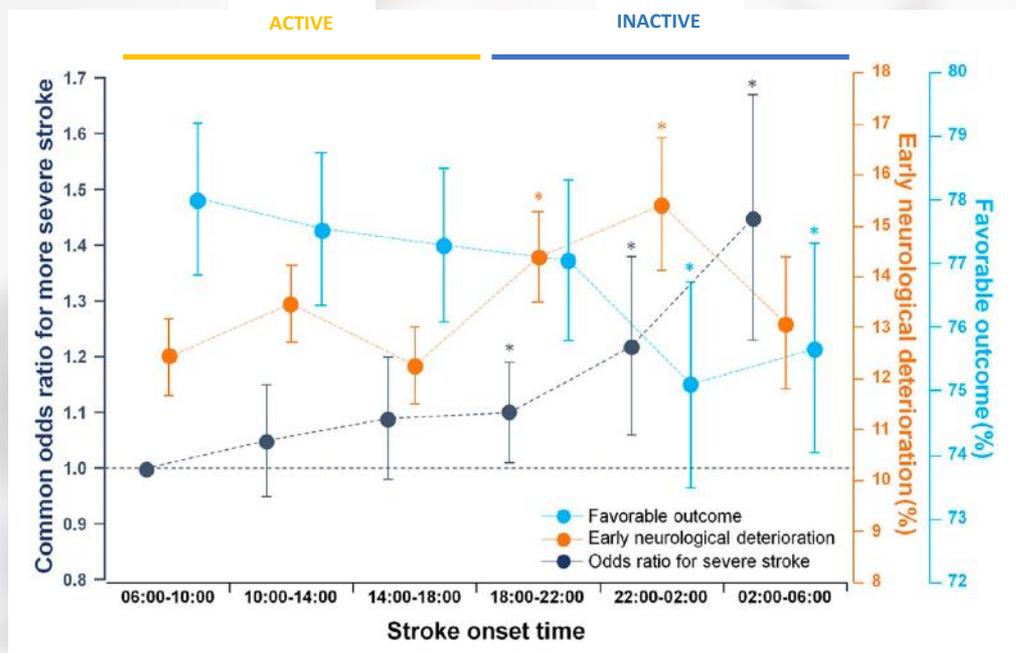
Carolina Peña-Martínez, MSc\*; Violeta Durán-Laforet, MSc\*; Alicia García-Culebras, PhD\*; Fernando Ostos, MD; Macarena Hernández-Jiménez, PhD; Isabel Bravo-Ferrer, PhD; Alberto Pérez-Ruiz, MSc; Federico Ballenilla, MD; Jaime Díaz-Guzmán, MD, PhD; Jesús M. Pradillo, PhD; Ignacio Lizasoain, MD, PhD; María A. Moro, PhD

*Stroke*. 2019;50:3228-3237.

Los NETs participan en la formación de trombos en ictus de humano y pueden explicar la resistencia al t-PA

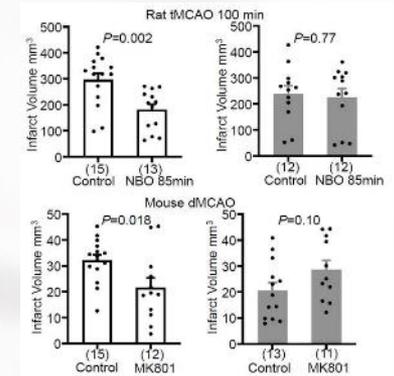
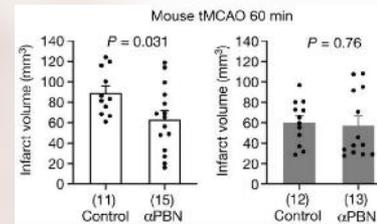
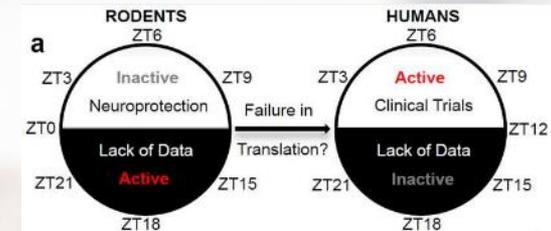


# RITMO CIRCADIANO



Ryu et al., *PLOS Medicine*. 2022

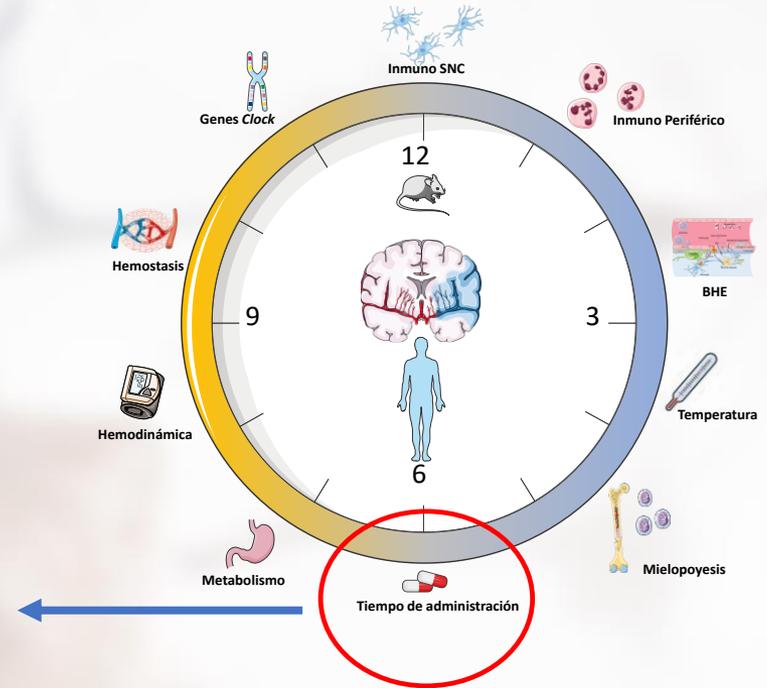
Infarct size is higher during inactive phase



Esposito et al. *Nature* 2020

## RITMO CIRCADIANO

1. Administración **NOCTURNA** de **antihipertensivos**  
(Bowles et al., *Curr Hyper Rep.* 2018)
  2. Administración **NOCTURNA** de **aspirina**  
(Bonten et al., *Hypertension.* 2015)
- 
1. **Trombolisis DIURNA**  
(Lorenzano et al., *Stroke.* 2014)
  2. **Trombectomía DIURNA**  
(Hajdu et al., *Neurology.* 2021)



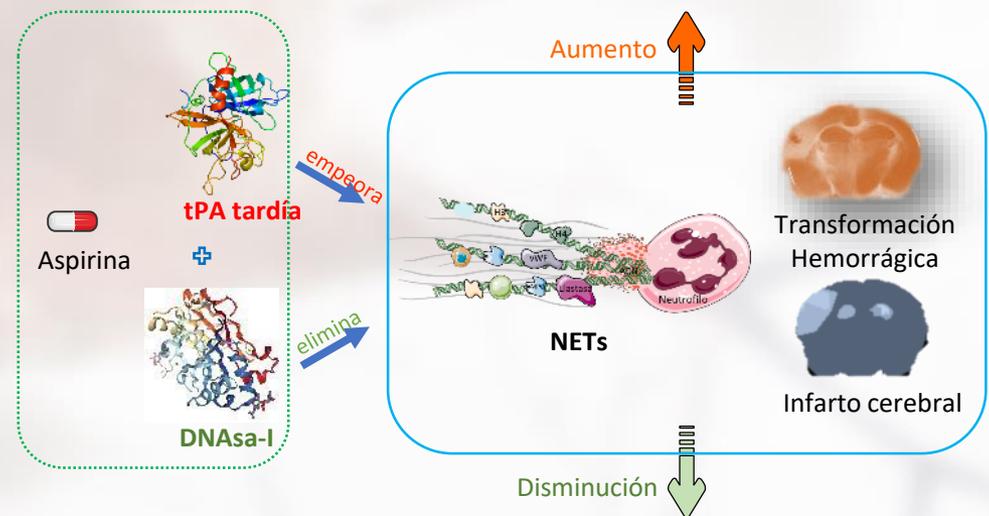
## Objetivos

1. EFECTO DE DNAsa-I EN EL ICTUS ISQUÉMICO.
2. EFECTO DEL TRATAMIENTO CON DNAsa-I EN LA TRANSFORMACIÓN HEMORRÁGICA
3. EFECTO DE LOS RITMOS CIRCADIANOS EN EL TRATAMIENTO CON DNAsa-I EN EL ICTUS ISQUÉMICO.
4. EFECTO DEL PRETRATAMIENTO CON ASPIRINA EN LA TRANSFORMACIÓN HEMORRÁGICA

Se llevarán a cabo estudios de co-administración con **tPA** y pre-tratamiento con fármacos antiagregantes como la **aspirina**

Estudiaremos:

- Volumen de infarto y déficit neurológico
- Índice de perfusión, NETs, neutrófilos
- Transformación hemorrágica



# MODELO ANIMAL: TROMBOEMBÓLICO *IN SITU*

MRI  
mNSS  
RIP: plasma y cerebro

Trombina

0 2h45min 12h 24h

DNAsa

Micropipeta

Laser doppler

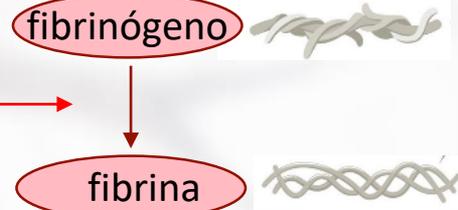
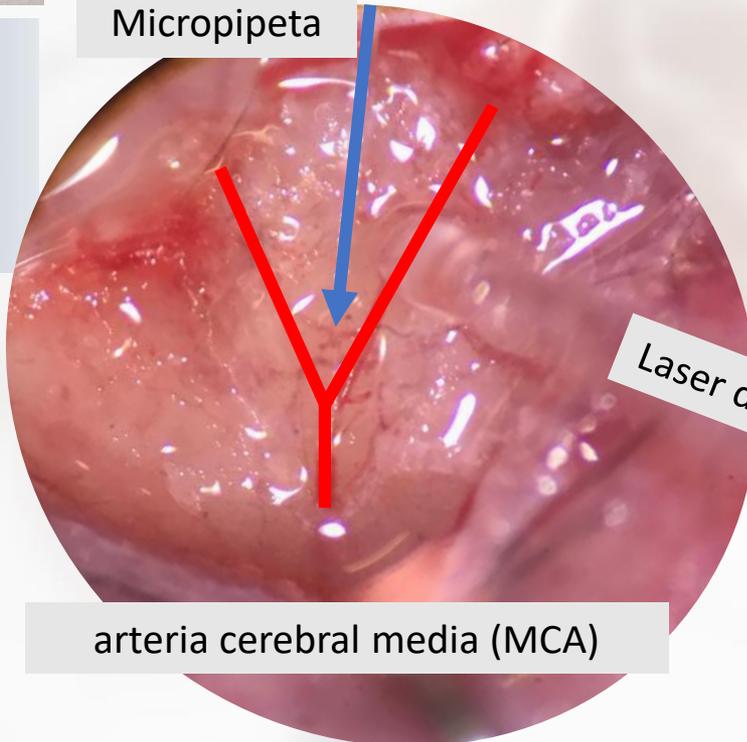
arteria cerebral media (MCA)

fibrinógeno

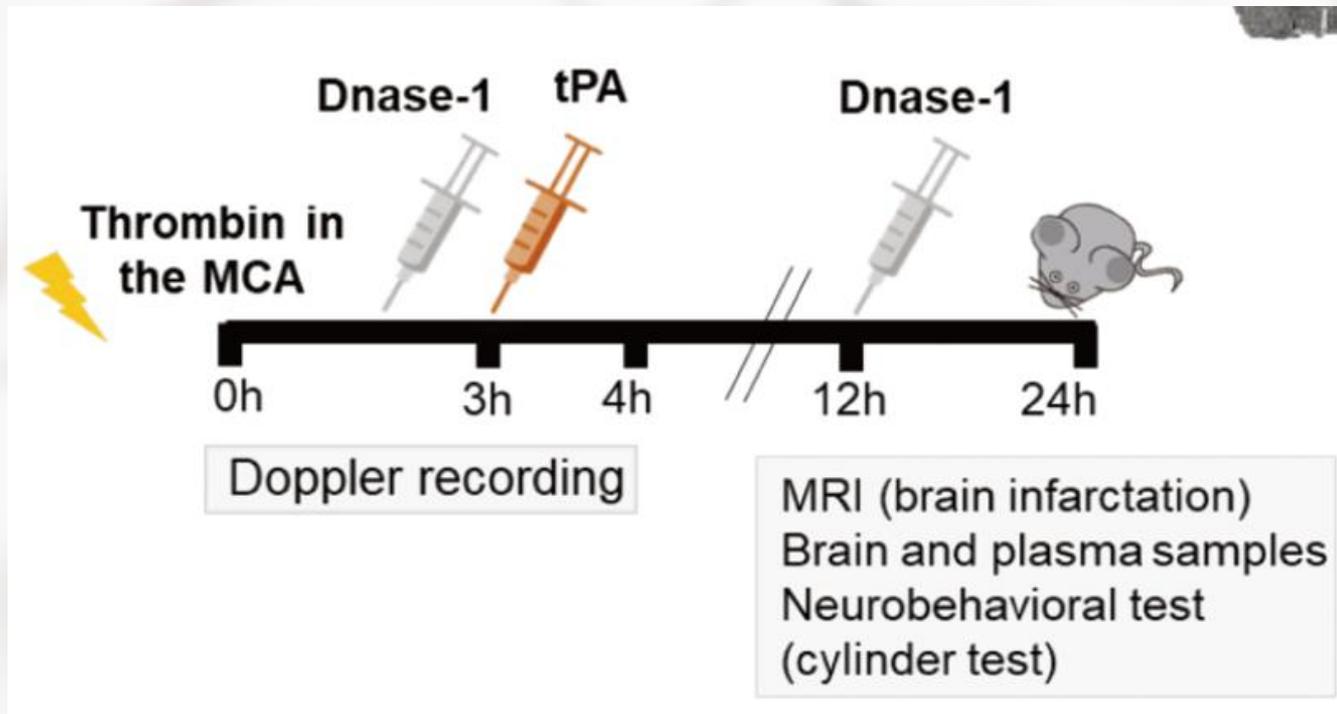
trombina

fibrina

(Orset et al., Stroke. 2007)



## TRATAMIENTOS FARMACOLÓGICOS IN VIVO



## *Zeitgeber Time*

Las programaciones se mantuvieron 3 semanas antes de iniciar la cirugía.

### **ZT4-ZT7:**

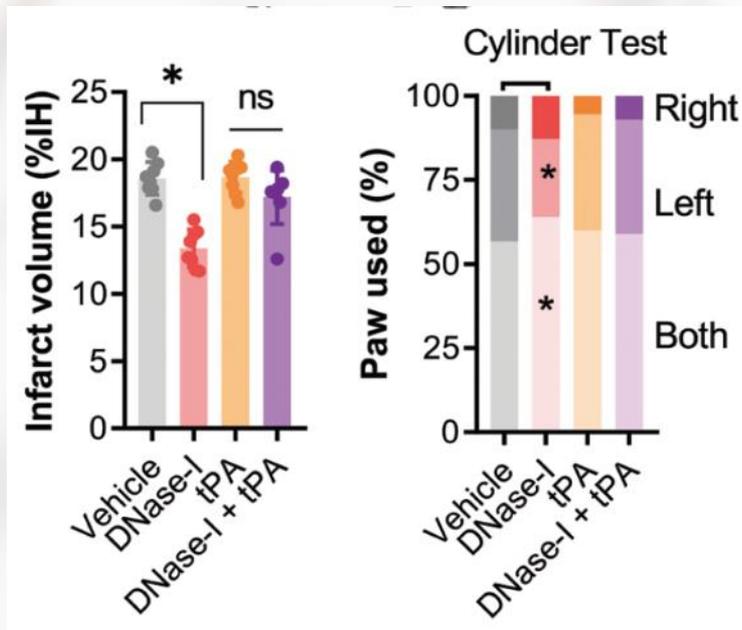
- Luz de 8:00 am (ZT0) a 20:00 pm (ZT12). Sin luz de 20:00 pm a 8:00 am.
- La cirugía comenzó al mediodía, a las 12:00 pm (ZT4).

### **ZT13-ZT16:**

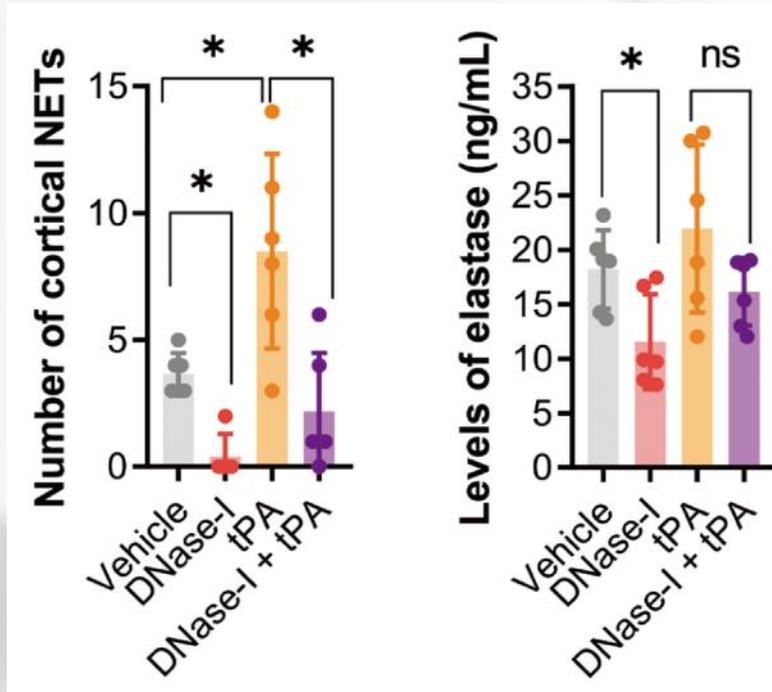
- Luz de 14:00 pm (ZT0) a 2:00 am (ZT12). Sin luz de 2:00 am a 14:00 pm. La cirugía comenzó a las 6:00 am (ZT16).
- Luz de 20:00 pm (ZT0) a 8:00 am (ZT12). Sin luz de 8:00 am a 20:00 pm. La cirugía comenzó al mediodía, a las 12:00 p. m. (ZT16).



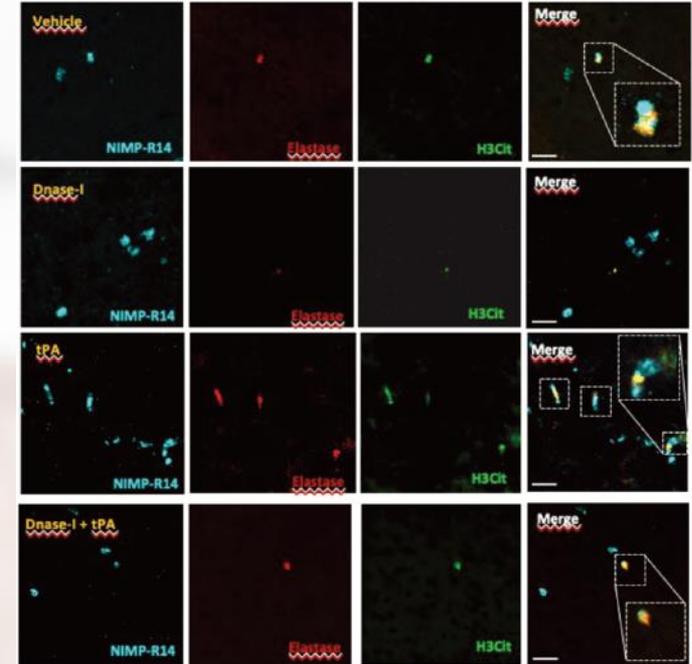
## Volumen de infarto Déficit neurológico



- El tratamiento con DNase-I reduce el volumen de infarto.
- El tratamiento con DNase-I produce una mejoría de los síntomas neurológicos.



## NETs y elastasa



- El tratamiento con DNase-I reduce la concentración de NETs.
- El tratamiento con tPA a las 3 horas produce un aumento de la presencia de NETs.
- La adición de DNase-I al tPA reduce la concentración de NETs.

- El tratamiento con DNase-I reduce los niveles plasmáticos de NETs a las 4 horas.

INTRODUCCIÓN

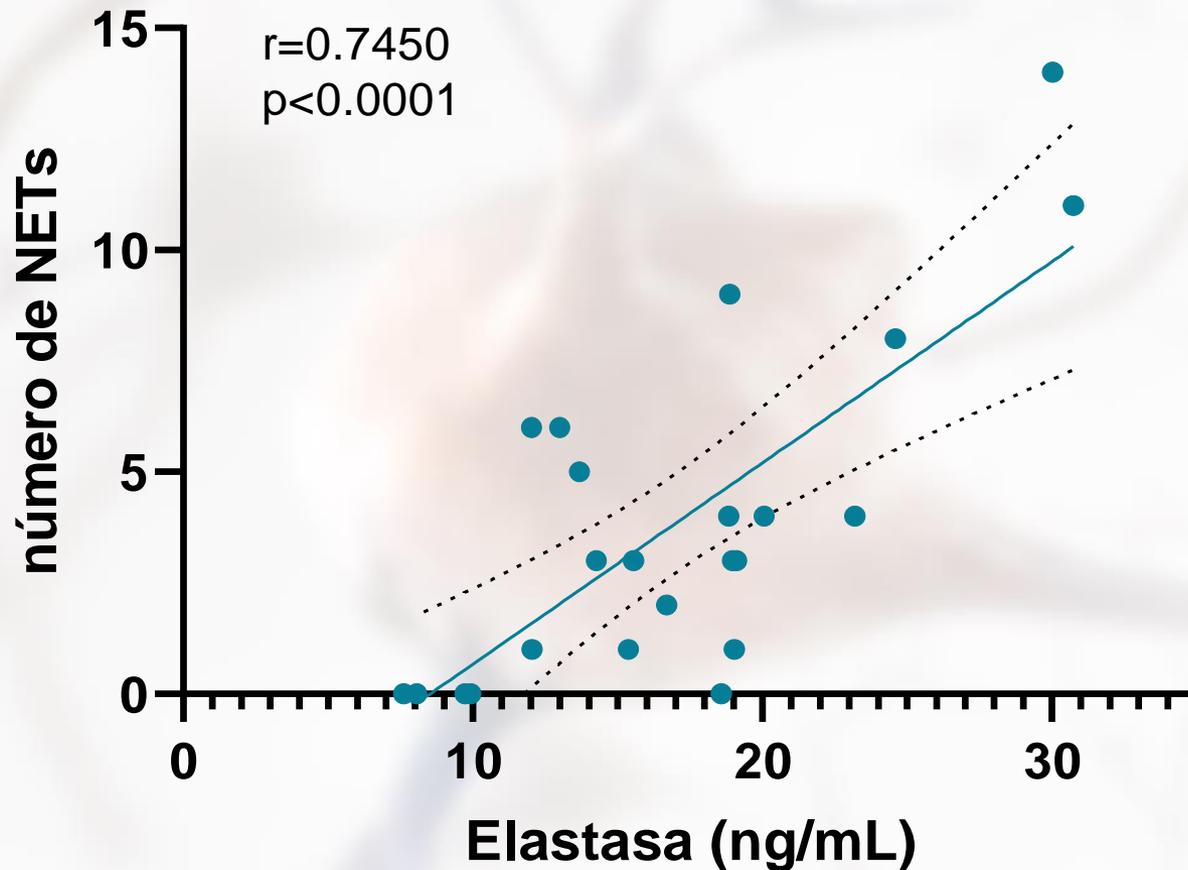
HIPÓTESIS

MATERIALES Y MÉTODOS

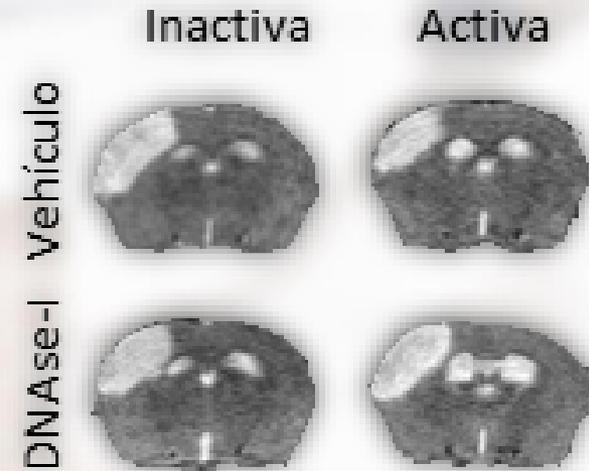
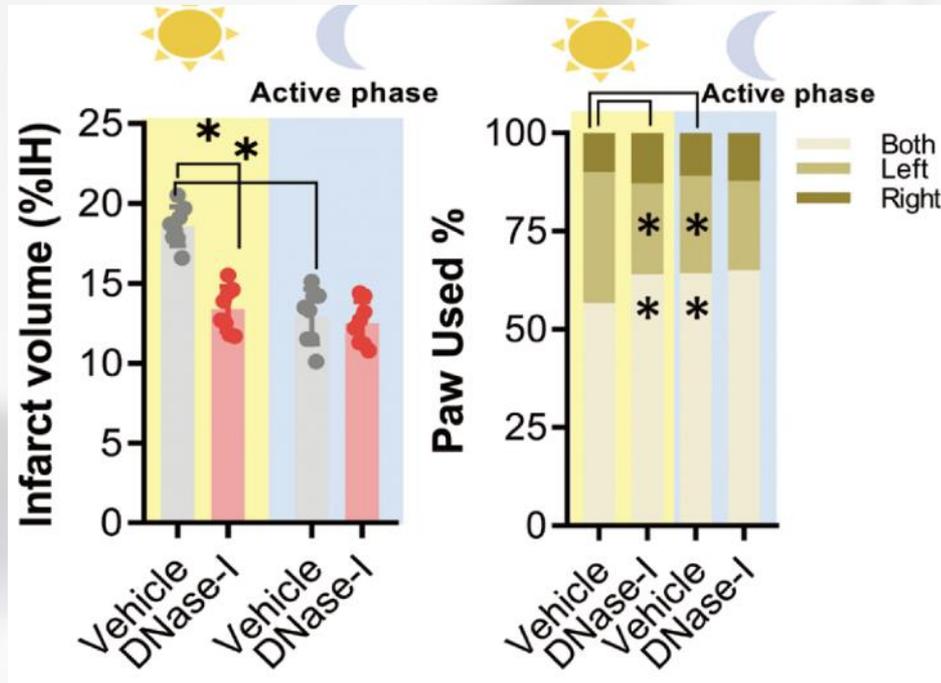
RESULTADOS

CONCLUSIONES

Existe una correlación positiva entre la presencia de NETs en la corteza y los niveles plasmáticos de elastasa

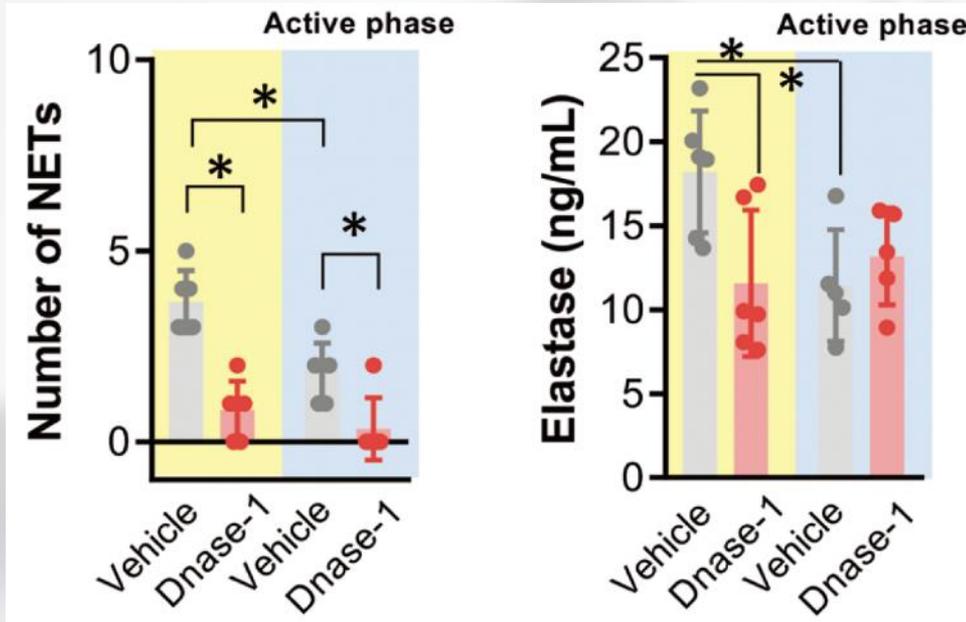


## Volumen de infarto y déficit neurológico



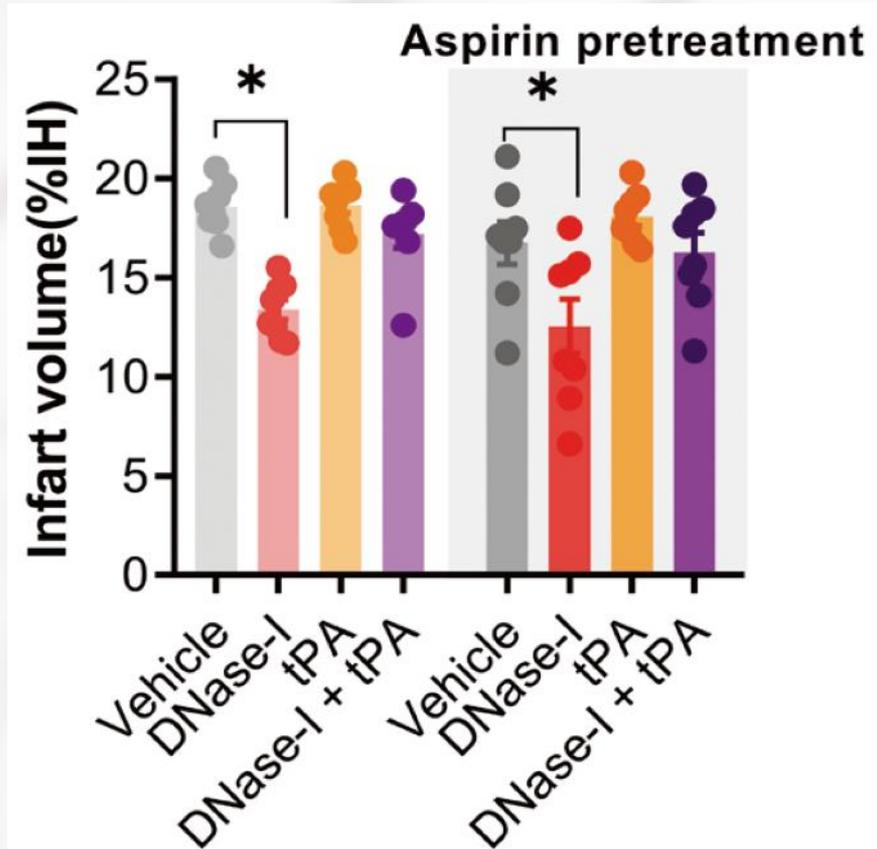
- En los ratones WT, la isquemia (MCAO) produce un **infarto** significativamente **mayor durante la fase inactiva** que se correlaciona con un mayor déficit neurológico.
- El tratamiento con **DNAsa-I SOLO** produce su efecto protector durante la **fase inactiva**

## NETs y Elastasa

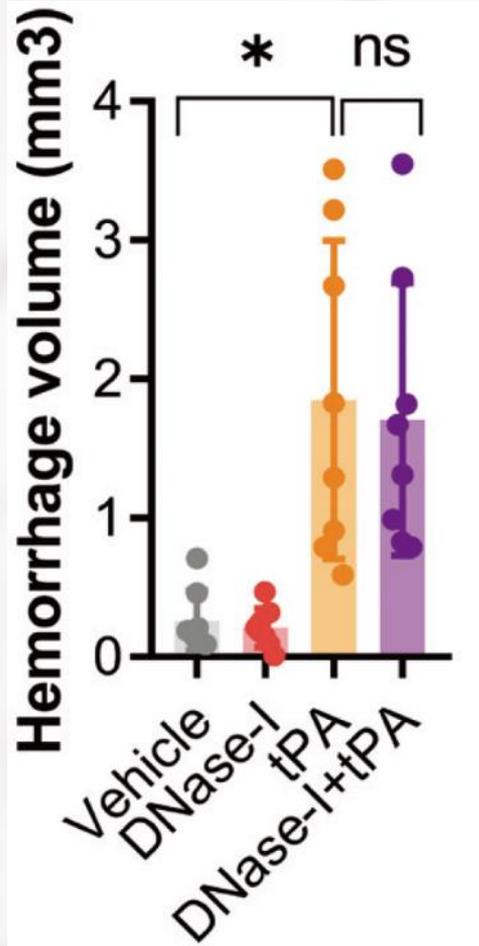


- Se observa una diferencia significativa en los niveles de NETs, entre los animales tratados con vehículo, entre la fase inactiva y la activa.
- En los animales WT, el tratamiento con **DNAsa-I**, reduce los niveles de NETs en ambas fases, inactiva y activa.
- Se observa una diferencia significativa en los niveles plasmáticos de elastasa a las 4h entre los animales tratados con vehículo entre la fase **inactiva** y la activa, lo que se correlaciona con las diferencias de volumen de infarto.
- En los animales WT, el tratamiento con **DNAsa-I**, reduce los niveles plasmáticos de elastasa a las 4 horas **SOLO durante la fase inactiva**.

## Pretratamiento con Aspirina

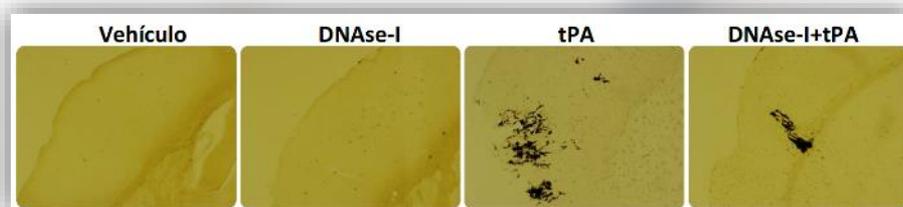


- El efecto protector del tratamiento con DNasa-I NO se ve alterado por un tratamiento crónico con aspirina

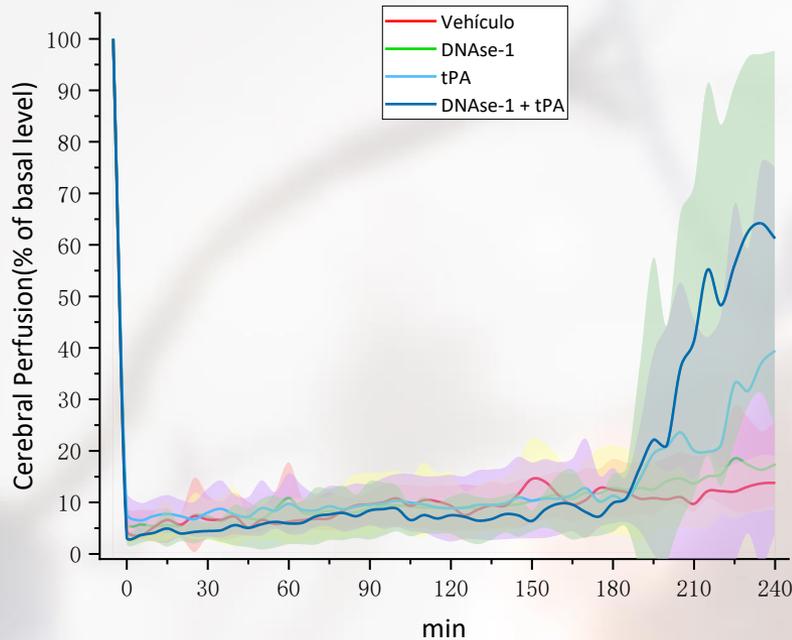


### Transformación Hemorrágica

- La administración de DNAsa-I no produce sangrado.
- La administración tardía de tPA (3 h) aumenta el volumen hemorrágico.
- La adición de DNAsa-I al tratamiento con tPA no incrementa la transformación hemorrágica inducida por la administración tardía del trombolítico



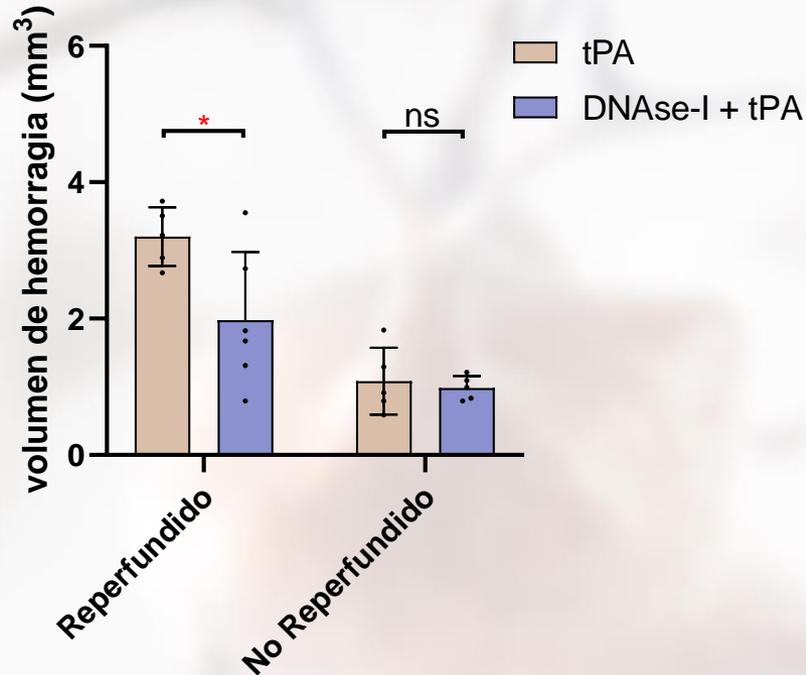
## Incidencia de la reperfusión



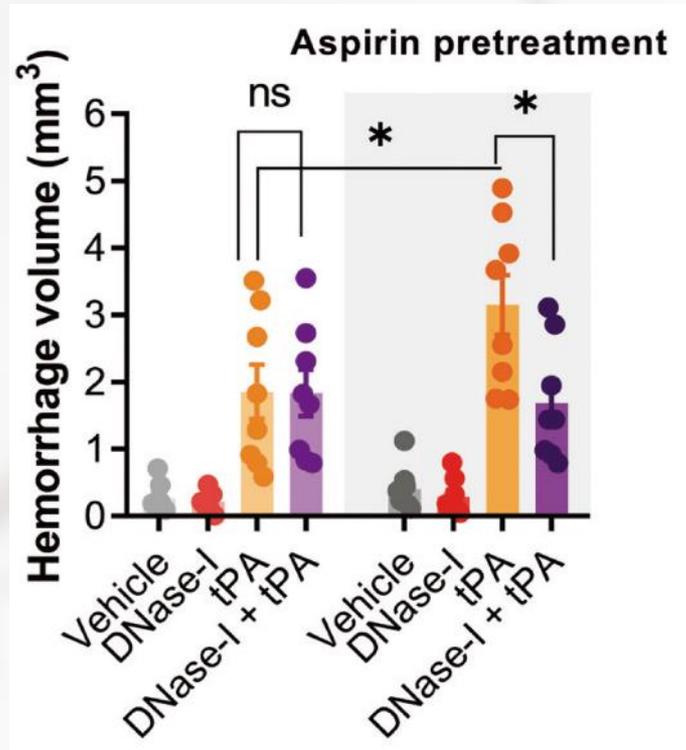
- El tratamiento con DNase-I no modifica los índices de reperfusión espontánea ni aumentó el flujo sanguíneo medido por la sonda Doppler hasta 4 horas después de la oclusión.
- La administración de tPA a las 3 horas tras la oclusión produce una recanalización arterial exitosa en el 37,5% de los animales WT.
- La adición de DNase-I al tratamiento con tPA aumenta el índice de recanalización hasta un 75% de los casos.

Rep. esp/Total. Antes de tratamientos			5/37 (13.5%)		
			DNase-I	tPA	DNase-I + tPA
Rep. DNase-I	Rep. tPA	Rep. DNase-I + tPA	0	3 (37.5%)	6 (75%)
Total			8	8	8

## Transformación Hemorrágica

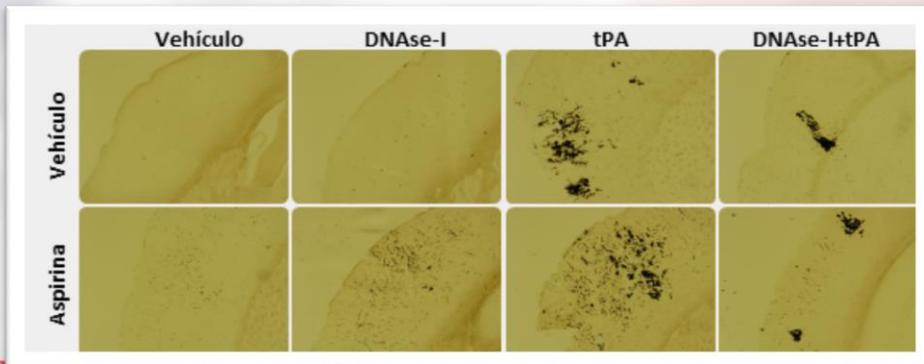


La adición de DNAsa-I al tPA no solo **no aumenta** la aparición de TH sino que disminuye el volumen de hemorragia en los animales que reperfundan

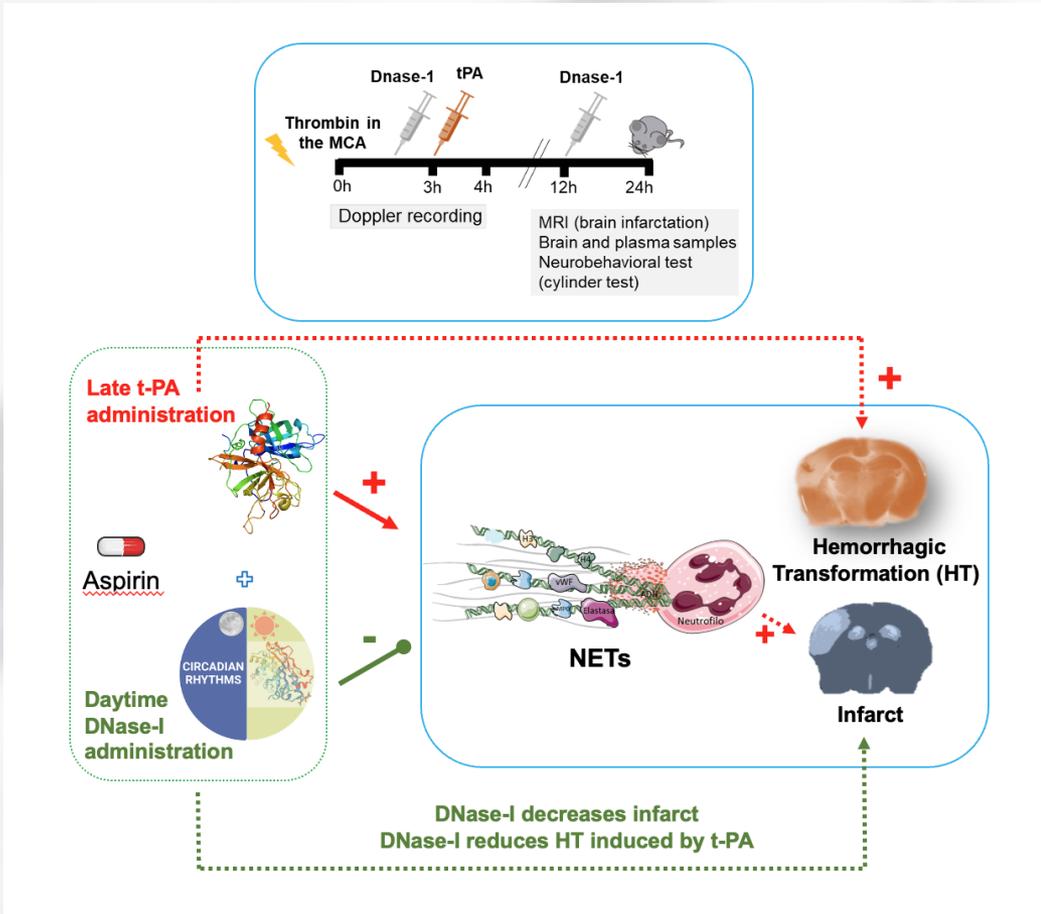


## Pretratamiento con Aspirina

- El tratamiento crónico con aspirina no produce ningún cambio en los efectos de la administración única de DNasa-I.
- En los pretratados con aspirina, la administración tardía de tPA aumenta la hemorragia
- En los pretratados con aspirina, la adición de DNasa-I al tratamiento con tPA disminuye la aparición de TH.



# CONCLUSIONES



RECRUITING

**NCT05203224**

Improving Early Reperfusion With Adjuvant Dornase Alfa in Large Vessel Ischemic Stroke (EXTEND-IA DNase)

Conditions

Ischemic Stroke

Locations

- Brisbane, Queensland, Australia
- Adelaide, South Australia, Australia
- Melbourne, Victoria, Australia

---

RECRUITING

**NCT05880524**

Reduction of Systemic Inflammation After Ischemic Stroke by Intravenous DNase Administration (ReSCInd)

Conditions

Inflammatory Response Ischemic Stroke

Locations

- Munich, Bavaria, Germany



# GRACIAS

博学之，审问之，慎思之，明辨之，笃行之