



Fundació
La Marató de TV3

XVII SIMPOSIUM

Lesiones medulares y cerebrales adquiridas



GODS PROJECT: CONTRIBUCIÓN GENÉTICA AL PRONÓSTICO FUNCIONAL Y LA DISCAPACIDAD DESPUÉS DEL ICTUS

Jordi Jiménez Conde

Institut de Recerca Hospital del Mar

Xavier Estivill Pallejà

Centre de Regulació Genòmica

Jerzy Krupinski

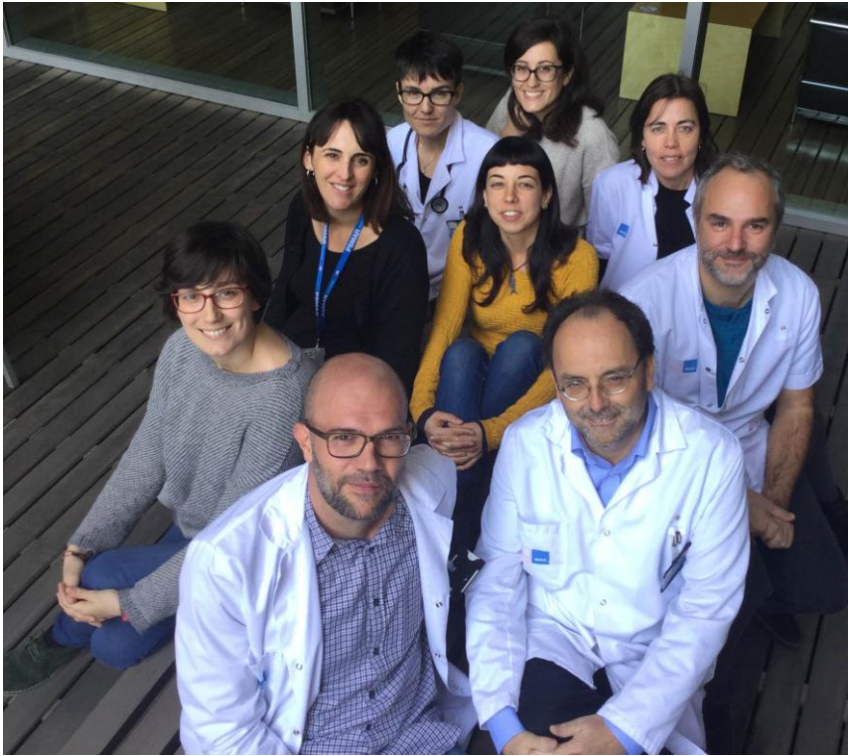
Hospital Universitari Mútua de Terrassa

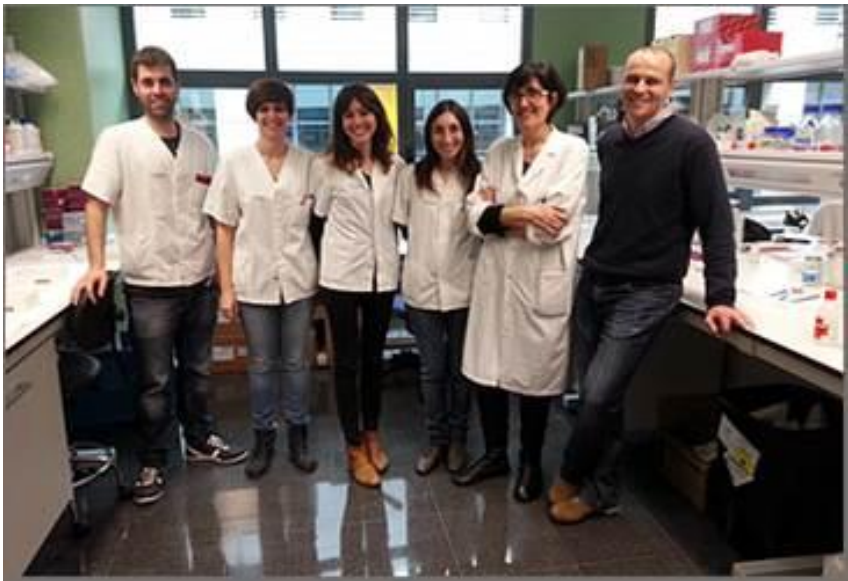
Cristòfol Vives Bauzà

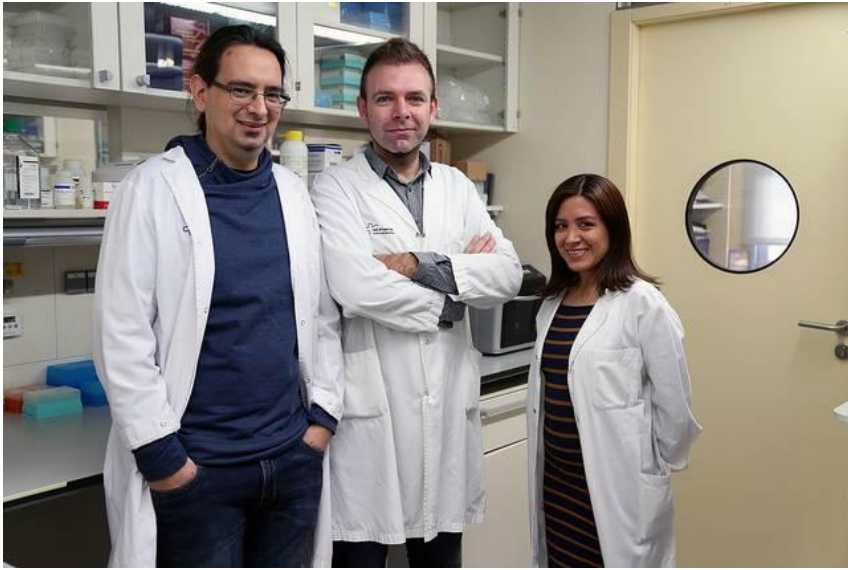
Hospital Universitari Son Espases Palma de Mallorca

Israel Fernández Cadenas

Institut de Recerca Hospital Universitari Vall d'Hebron







1. Resumen del proyecto

ANTECEDENTES

Las enfermedades cerebrovasculares son la primera causa de dependencia en nuestro medio. La variabilidad interindividual en el grado de discapacidad después de sufrir un ictus parece tener un sustrato genético. El objetivo del estudio es descubrir variantes genéticas para predecir y mejorar los procesos de recuperación.

OBJETIVOS

Objetivos principales:

1. Identificar variantes genéticas y regiones asociadas con el grado de discapacidad después de sufrir un ictus isquémico.
2. Validar y replicar consistentemente estas variantes asociadas.

Objetivos secundarios:

3. Crear un *score* de riesgo clinicogenético y comprobar su capacidad predictiva para el pronóstico clínico.
4. Establecer las bases de futuros estudios en el campo:
 - a. Mediante las regiones y genes asociados, descubrir nuevas vías y mecanismos involucrados en la recuperación funcional.
 - b. Identificar nuevas dianas terapéuticas y farmacológicas potenciales.

DISEÑO Y METODOLOGÍA

Fase 1: Selección de regiones o variantes candidatas

1. *GWAS-Metanalysis* de 4 GWAS de ictus isquémicos (n=1.252). Se realizaron análisis para encontrar la asociación con el pronóstico funcional tres meses después del ictus, utilizando la escala de Rankin modificada (mRS), ajustada por gravedad inicial (NIHSS), edad y sexo. Se seleccionaron aquellas variantes más fuertemente asociadas ($p < 5 \times 10^{-8}$) para la fase de replicación.
2. *Exome sequencing*. Comparamos casos de ictus que tienen gran dependencia funcional (mRS=4-5) con independientes (mRS<2) tres meses después del ictus, apareados según subtipo de ictus, ajustados por NIHSS inicial, edad, sexo y factores de riesgo vascular (FRV). Se escogieron los genes asociados con una $p < 0,01$ para realizar los análisis de *genomic convergence*.

Fase 2: Validación y replicación

Aquellas variantes seleccionadas a partir del análisis *GWAS-metanalysis*, y las variantes en los genes más asociados ($p < 0,01$) en el análisis de *exome sequencing* (dando prioridad a las regiones que muestran resultados consistentes con los GWA) fueron incluidos en la fase de replicación. La replicación se llevará a cabo en aproximadamente 5.000 individuos de diferentes cohortes internacionales de la International Stroke Genetics Consortium (ISGC). Las variantes genéticas se analizarán para la asociación con el estado funcional de tres meses (mRS), ajustando por edad, sexo, NIHSS inicial y VRF. Sobre la base de estos resultados desarrollaremos un *score* clinicogenético.

Fase 3: Experimentos funcionales

Investigar la funcionalidad de las asociaciones observadas en la fase 2 y las vías en las que están implicadas.

Nuestros resultados mejorarán la comprensión de los procesos de plasticidad neuronal, lo cual llevará potencialmente a identificar nuevas dianas terapéuticas. Además, el *score* clinicogenético puede reducir el porcentaje de discapacitados mediante la personalización de las estrategias de rehabilitación.

2. Resultados

- Tras el metaanálisis de los cuatro GWAS (metaGWAS), se han encontrado hasta 400 variantes comunes que muestran una tendencia a la asociación ($p < E-5$) con el pronóstico tres meses después del ictus (valorado con la escala de Rankin modificada). Destacan dos genes (INADL y GOLGA6B) con cuatro SNP que alcanzan una significación de $p < 5E-8$ y un enriquecimiento de variantes cercanas a la significación, que tienen altas posibilidades de que se pueda confirmar una asociación real. El análisis por *gene-based* apunta hacia estos mismos resultados. Pendiente de replicación en *GISCOME-study* del International Stroke Genetic Consortium.

- El análisis del exoma ha mostrado 76 genes con diferencias en la acumulación de variantes raras entre individuos con buen pronóstico respecto a los que tienen mal pronóstico, con un valor de $p\text{-val} < 0,01$. Ningún gen ha alcanzado un nivel de significación suficiente una vez corregido por análisis múltiples, pero uno de los genes

sugeridos en metaGWAS se encuentra entre los que son nominalmente significativos. Este hecho aumenta la solidez y coherencia de los resultados.

- El proceso de *genomic convergence* para seleccionar las áreas candidatas no ha generado resultados nuevos más allá de los candidatos obtenidos por metaanálisis de GWAS y análisis *gene-based*.

En el punto actual del proyecto podríamos concluir que:

- Se han identificado diferentes variantes genéticas, especialmente en dos genes, que podrían estar relacionadas con una mejor capacidad de recuperación después del ictus. En caso de que estos hallazgos se confirmen y repliquen, se habrían identificado por primera vez variantes genéticas que influyen en el grado de discapacidad después de sufrir un ictus.

- El estudio del componente genético de rasgos complejos, como el del pronóstico del ictus, requiere de un fenotipaje muy preciso y cuidadoso para evitar interferencias con otros factores implicados.

- El abordaje desde diferentes técnicas (GWAS y *exome sequencing*) puede ser complementario y sinérgico, ya que da más consistencia a los hallazgos. Sin embargo, en el presente estudio el proceso de *genomic convergence* no ha aportado nuevas variantes o regiones que no se hayan visto en las técnicas individualmente.

3. Relevancia y posibles implicaciones

La discapacidad después del ictus supone una gran carga para los individuos y para la salud pública (17.000 € por año y persona). El papel de los factores genéticos en el grado de discapacidad parece significativo, pero los estudios realizados al respecto son limitados. La utilidad potencial de descubrir el componente genético detrás de la variabilidad interindividual en la capacidad de recuperación después del accidente cerebrovascular podría tener un gran impacto en diferentes aspectos:

- Desde un punto de vista científico, este tema tiene un interés relevante debido a que la mayoría de los mecanismos subyacentes implicados en la respuesta cerebral contra

las lesiones siguen siendo desconocidos. Este proyecto puede contribuir a mejorar nuestra comprensión, a través del descubrimiento de variantes genéticas asociadas con la recuperación clínica, indicando las potenciales bases moleculares de los procesos de plasticidad neuronal, la regeneración de tejidos, angiogénesis o sinaptogénesis.

- Sin embargo, la identificación de nuevos mecanismos y rutas implicadas en la recuperación tras el ictus no solo tiene interés para aumentar nuestro conocimiento, sino que también puede implicar la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas susceptibles de ser moduladas por fármacos actuales o nuevos.

- Por otra parte, el desarrollo de una puntuación de riesgo clinicogenético que predice la evolución y riesgo de discapacidad después del ictus también puede ayudar en la identificación de la estrategia de rehabilitación más adecuada desde el primer momento. Si fuéramos capaces de reducir solo un 2% la discapacidad utilizando nuestro modelo clinicogenético, significaría una reducción de entre 2.880.000 y 17.850.000 de euros al año en nuestro país.

Por lo tanto, aparte de la aplicabilidad inmediata de un *score* clinicogenético, nuestro proyecto es un paso necesario para establecer las bases de futuras investigaciones en el campo. El futuro desarrollo de moléculas activas o fármacos que puedan contribuir en los procesos de recuperación neuronal puede ser el paso siguiente que representará, sin duda, un gran impacto en nuestra sociedad y un avance sustancial en la mejora de la calidad de vida de los pacientes con ictus.

4. Bibliografía científica generada

COMUNICACIONES:

Charla:

Jiménez-Conde J, Mola Caminal M.

GODS project Genetic contribution to functional Outcome and Disability after Stroke.

Financiación: La Marató de TV3.

Reunión grupo de expertos en patología cerebrovascular de Cataluña. Hospital del Mar, Barcelona, junio de 2013.

Charla:

Jiménez-Conde J, Mola Caminal M, Carrera C.

GODS project Genetic contribution to functional Outcome and Disability after Stroke.

Financiación: La Marató TV3

IV Seminario de Genética del Ictus, reunión anual de la Sociedad Española de Neurología (SEN). Palau de Congressos de Catalunya, Barcelona, noviembre de 2013.

Jiménez Conde J, Giralt Steinhauer E, Soriano Tárraga C, Mola Caminal M, Rodríguez Campello A, Ois Santiago A, Cuadrado Godia E, Muiño E, Navalpotro I, Puig A, Gómez A, Roquer González J.

Carga genética asociada a factores de riesgo vascular y su contribución en la evolución funcional del ictus.

LXV Annual Spanish Neurological Society's Conference. Barcelona, noviembre de 2013. Neurología. 2013;28: 46.

Maguire JM, Lindgren A, Bevan S, Fernández-Cadenas I, Hankey G, Jern C, Jiménez-Conde J, Lee JM, Lemmens R, Levi C, Meschia J, Rost N, Rosand J, Rothwell P, Scott R, Strbian D, Sturm J, Sudlow C, Thijs VN, Tatlisumak T, Woo D, Worrall B.

GISCOME – Genetic influences on Ischaemic Stroke functional Outcome: a genome wide association study. 25th Australasia Stroke Society Conference. 2014.

Lindgren A, Bevan S, Fernández-Cadenas I, Jern C, Jiménez-Conde J, Lee JM, Lemmens R, Maguire JM, Rost N, Rothwell PM, Strbian D, Sudlow CLM, Woo D, Worrall BB, ISGC-International Stroke Genetics Consortium; GISCO ME-Genetics of Ischaemic Stroke Outcome study.

GISCOME- Genetics of Ischaemic Stroke Outcome study.

XXIII European Stroke Conference. Niza, mayo de 2014.

Cerebrovasc Dis 2014; 37(suppl1). 285.

Mola-Caminal M, Rabionet R, Soriano-Tárraga C, Giralt-Steinhauer E, Carrera C, Fernández-Cadenas I, Estivill X, Roquer J, Jiménez-Conde J.

Identificación de genes implicados en la recuperación del ictus isquémico mediante secuenciación del exoma de pacientes con fenotipos extremos.

LXVI Annual Spanish Neurological Society's Conference. Barcelona, noviembre de 2014. Neurología, 2014.

Jiménez-Conde J.

GWALA!! GODS!! What is this Leukoaraiosis? Multiple Approaches in Research for a Complex Phenomenon.

Sessions Científiques Programa de Neurociències. Parc de Recerca Biomèdica, Barcelona, 11 de abril de 2014.

Jiménez-Conde J.

Implicació de la genètica al diagnòstic de la patologia vascular cerebral.

III Jornada d'Actualització en el Tractament i Diagnòstic de les Malalties Neurològiques més Prevalents. Salt (Gerona), 16 de octubre de 2014.

Mola M, Rabionet R, Soriano C, Giralt-Steinhauer E, Carrera C, Escaramís G, Susak H, Ossowski S, Fernández I, Estivill X, Roquer J, Jiménez-Conde J.

Identification of genes involved in Functional Outcome and Disability after Ischemic Stroke through Exome Sequencing of Extreme Phenotypes.

Next Generation Sequencing Conference 2014. Parc de Recerca Biomèdica, Barcelona, 2014.

Rabionet R, Mola M, Escaramís G, Susak H, Soriano C, Carrera C, Ossowski S, Fernandez-Cadenas I, Roquer J, Jiménez-Conde J, Estivill X.

Identification of genes involved in functional recovery after stroke through exome sequencing of extreme phenotypes.

64th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics. San Diego (EE. UU.), octubre de 2014.

Jiménez-Conde J, Mola Caminal M, Rabionet R, Soriano-Tárraga C, Giralt-Steinhauer E, Carrera C, Susak H, Ossowski St, Estivill X, Roquer J, Fernández-Cadenas I.

Identification of Genes Involved in Functional Outcome after Ischemic Stroke through Exome Sequencing, GWAs and Genomic Convergence. GODS Project.

40th International Stroke Conference. Nashville, Tennessee (EE. UU.), 2015.

Rabionet R , Mola M, Soriano C, Carrera C, Susak H, Ossowski S, Fernandez-Cadenas I, Jimenez-Conde J, Estivill X.

Identification of genes involved in Functional Recovery after stroke through exome sequencing of extreme phenotypes. The Biology of Genomes. Cold Spring Harbor, Nueva York (EE. UU.), mayo de 2015.

Jiménez-Conde J.

GODs Project

Outcome Session, 17th Workshop of the International Stroke Genetics Consortium. Hamilton (Canadá), 5 de junio de 2015.

Mola Caminal M, Soriano Tárraga C, Giralt Steinhauer E, Rabionet Janssen R, Carrera C, Fernández Cadenas I, Estivill X, Roquer J, Jiménez Conde J.

Asociación del gen BRE a la recuperación del ictus isquémico mediante Convergence Analysis entre Exome Sequencing y Genome Wide Association Studies.

LXVII Annual Spanish Neurological Society's Conference. Barcelona, noviembre de 2015.

Neurología, 2015.

PUBLICACIONES DERIVADAS DIRECTAMENTE DE LOS OBJETIVOS DEL PROYECTO:
En fase de escritura.

PUBLICACIONES CON CONTRIBUCIÓN PARCIAL O INDIRECTA DE LA FINANCIACIÓN DEL PROYECTO:

Pulit SL*, McArdle PF*, Wong Q*, Malik R* (...Cuadrado-Godia E, Estivill Pallejà X, Fernández Cadenas I, Giralt-Steinhauer E, Jiménez-Conde J**, Mola-Caminal M, Ois Á, Rodríguez-Campello A, Rabionet R, Roquer J, Soriano C...) Australian Stroke Genetics Consortium, Cervical Artery Dissection and Ischemic Stroke Patients (CADISP) study, Cohorts of Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology (CHARGE) consortium, Consortium of Minority Population genome-wide Association Studies of Stroke (COMPASS), METASTROKE consortium, Wellcome Trust Case-Control Consortium, Worrall BB*, De Bakker PIW*, Kittner SJ*, Mitchell BD*, Rosand Jonathan*.

*Contributed equally. **Steering committee.

Loci associated with ischaemic stroke and its subtypes (SiGN): a genome-wide association study. NINDS Stroke Genetics Network (SiGN) and International Stroke Genetics Consortium (ISGC).

Lancet Neurol. 2015, Dec 18. pii: S1474-4422(15)00338-5. IF: 21.823