



**Fundació**  
La Marató de TV3

XVII SIMPOSIUM

Lesiones medulares y cerebrales adquiridas



## **PREDICTUS - ACERCAMIENTO AL DIAGNÓSTICO Y PRONÓSTICO DE LA ISQUEMIA CEREBRAL TRANSITORIA Y DEL FENÓMENO DE TOLERANCIA ISQUÉMICA A TRAVÉS DE LA APLICACIÓN DE LA TECNOLOGÍA DE BIOLOGÍA DE SISTEMAS**

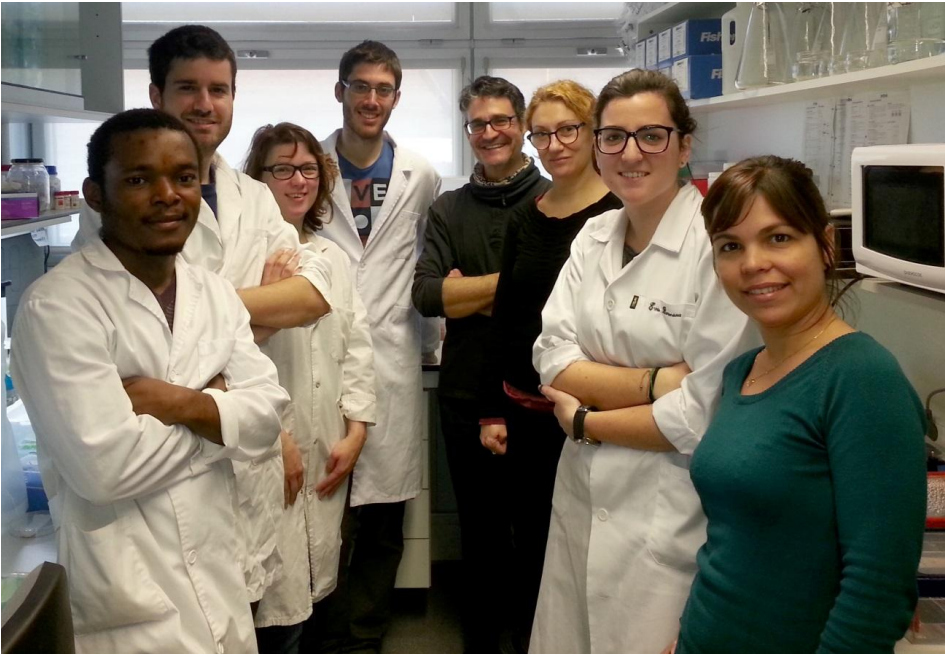
**Francisco Purroy García**

Hospital Universitari Arnau de Vilanova Lleida

**Joaquim Egea Navarro**

Facultat de Medicina UdL





## 1. Resumen del proyecto

El infarto isquémico cerebral es la principal causa de discapacidad en el adulto. Los ataques isquémicos transitorios (AIT), que preceden a los infartos establecidos en casi un 20% de los casos, suponen una oportunidad única de prevención del desarrollo de la enfermedad cerebrovascular. El riesgo de recurrencia de ictus tras un AIT es especialmente elevado durante los primeros días después haberlo sufrido. Sin embargo, el grupo de pacientes con isquemia transitoria es heterogéneo, tanto por la clínica como por los factores de riesgo, la etiología y, sobre todo, la evolución. Por esta razón, cualquier estrategia que permita seleccionar a los pacientes de mayor riesgo es capital. Aunque parezca una paradoja, en modelos animales se ha demostrado que en los AIT, las isquemias transitorias reguladas pueden tener un efecto neuroprotector contra la isquemia permanente (fenómeno de tolerancia isquémica). Este fenómeno no se ha demostrado todavía en la práctica clínica, pero podría ser de gran interés para el desarrollo de terapias neuroprotectoras. Para resolver todas estas cuestiones, nuestro proyecto multidisciplinar ha desarrollado un modelo animal de AIT, ictus isquémico y tolerancia isquémica por compresión de la arteria cerebral media.

## 2. Resultados

### SUBESTUDIO HUMANO

#### **Biomarcadores de recurrencia de ictus en pacientes con AIT**

El estudio metabolómico de dos cohortes independientes y consecutivas de pacientes con ataque isquémico transitorio (la primera cohorte de 131 pacientes y la segunda, de 162 pacientes) nos ha permitido identificar biomarcadores relacionados con la etiología ateromatosa, riesgo de recurrencia de ictus y de recurrencia precoz. Concretamente, la (LysoPC) 16:0 y LysoPC 20:4 se correlacionan con la recurrencia del ictus, mientras que la LysoPC 22:6 lo hace con la etiología ateromatosa.

#### **Biomarcadores relacionados con etiología cardioembólica en pacientes con AIT**

A diferencia de los pacientes con ictus establecido, existe un gran número de pacientes con AIT que inicialmente se clasifican en etiología indeterminada. Es interesante que hemos observado como los niveles elevados de proBNP medidos en diferentes

momentos (basal, 7 días y 90 días) se relacionan con el diagnóstico de etiología cardioembólica y con el antecedente o nuevo diagnóstico de fibrilación auricular. Este hecho lo hemos demostrado en una cohorte de 140 pacientes con AIT después de determinar una batería de biomarcadores: *interleukin-6 (IL-6)*, *tumor necrosis factor-alpha*, *neuron-specific enolase*, *high-sensitivity C-reactive protein*, IL-1-a y *N-terminal pro-B type natriuretic peptide (NT-proBNP)*.

### **Biomarcadores relacionados con la neuroimagen**

Las secuencias de resonancia magnética potenciadas en difusión son muy sensibles para la detección de isquemia cerebral aguda. Por esta razón se considera la prueba de neuroimagen de elección en los pacientes que han sufrido un AIT. El riesgo de recurrencia está relacionado con la presencia de lesiones isquémicas agudas en estas secuencias y especialmente con el patrón de lesión fragmentado en un territorio vascular. Después del estudio de las dos cohortes de pacientes con AIT, observamos un patrón metabolómico específico para la presencia de lesiones isquémicas agudas, para los diferentes patrones de lesión y para el volumen de lesión.

### **Tolerancia isquémica humana**

De los 246 pacientes con ictus establecido reclutados, un 9,4% tenían antecedentes de un ictus transitorio reciente en la semana previa al episodio índice (precondicionamiento isquémico). Los pacientes con AIT previo reciente tenían volúmenes de lesión significativamente inferiores a los de los pacientes sin AIT previo (tolerancia isquémica). Destacamos el hallazgo de una firma metabolómica relacionada con el desarrollo de tolerancia isquémica.

### **Estudio farmacogenético de anticoagulación**

El principal tratamiento de prevención para el desarrollo de ictus entre personas que tienen una fibrilación auricular es el acenocumarol (AC). Los genes implicados en el metabolismo del AC pueden sufrir alteraciones en un único nucleótido (SNP). Estos SNP pueden afectar enzimas diana del AC (VKORC1), enzimas responsables de la degradación de AC (CYP2C9) y enzimas de inactivación de la vitamina K. Hemos determinado estos SNP en una cohorte de pacientes con fibrilación auricular que, pese al tratamiento con Sintrom, sufrieron un ictus, y en una cohorte aparejada de personas con fibrilación auricular y bajo el mismo tratamiento durante un periodo mínimo de 2 años no ha sufrido ningún episodio vascular embólico (n=44). No hemos observado

ninguna diferencia entre las dos cohortes de sujetos en referencia a los factores de riesgo vascular y a la frecuencia de SNP. El antecedente de diabetes mellitus y los polimorfismos CYP4F2 y rs2108622 se han relacionado con el desarrollo de ictus isquémico precoz. Así, los pacientes con estos polimorfismos podrían ser candidatos a ser tratados con anticoagulantes directos en lugar de con inhibidores de vitamina K.

## SUBESTUDIO ANIMAL

### **Desarrollo de un modelo animal de ictus**

Hemos establecido 3 modelos animales de ratón, uno de isquemia transitoria, otro de ictus y, finalmente, uno de tolerancia isquémica. Los modelos se han basado en la compresión distal de la arteria cerebral media con una micropipeta roma durante 7 minutos para el modelo de AIT, y durante 25 minutos para el modelo de ictus. Hemos recogido muestras de plasma en el momento basal, a las 6 horas, 12 horas, 24 horas y 48 horas para realizar el estudio metabolómico. Para el desarrollo del modelo de tolerancia isquémica hemos realizado 5 oclusiones consecutivas durante 2 minutos a intervalos de 5 minutos entre ellas. Posteriormente, a las 24 horas se les ha hecho una oclusión durante 60 minutos. Hemos obtenido muestras tisulares del córtex con isquemia y muestras de plasma para estudio de mRNA y metabolómica. El modelo control ha consistido en ratones a los que solo se les ha realizado cirugía consistente en la disección de la piel y del músculo temporal; y la trepanación del hueso temporal (apertura de 3 mm<sup>2</sup>). Seguidamente, se ha procedido a la compresión del área adjunta a la arteria cerebral media asegurándose que no haya ninguna disminución del flujo cerebral.

### **Firma metabolómica de isquemia transitoria e isquemia persistente**

El análisis metabolómico ha permitido identificar los diferentes tiempos posteriores al desarrollo de los diferentes modelos a excepción del modelo control. Hemos descrito 38 metabolitos que diferencian el modelo control del modelo de AIT y del modelo de ictus. Además, 26 metabolitos han sido exclusivos de AIT y de ictus.

### **Expresión génica del fenómeno de tolerancia isquémica**

Nos hemos fijado en los cambios de expresión génica durante el proceso de tolerancia isquémica. Hemos extraído los mRNA de los ratones con la finalidad de comparar los cambios de expresión génica precoces y tardíos. Para cada momento temporal, hemos comparado el modelo control con el modelo condicionado usando un *array* específico

de hipoxia. Hemos descubierto que serpina 1, implicada en fenómenos de angiogénesis, y c-Fos junto con Lgasl 3, ya descritos en resistencia a isquemia, son genes de interés.

### **3. Relevancia y posibles implicaciones**

El ictus es la principal causa de discapacidad y una de las primeras de mortalidad en todo el mundo. La campaña anual del Día Mundial del Ictus nos anuncia que cada 6 segundos una persona muere a causa de este. Así, cualquier estrategia que cambie la historia natural de esta enfermedad es de enorme interés social. Nuestro proyecto ha contribuido al descubrimiento de biomarcadores relacionados con el diagnóstico etiológico y el pronóstico de los pacientes con ictus transitorio. La información que aportan estos biomarcadores, junto con las variables clínicas habituales, pueden ayudar extraordinariamente a los médicos que atienden a estos pacientes, sobre todo en los servicios de urgencias y en el ámbito de atención primaria, a tomar decisiones sobre su manejo, y así evitar recurrencias. Teniendo en cuenta la elevada incidencia de esta enfermedad, es muy probable que buena parte de estas personas sean atendidas en centros hospitalarios y en centros de atención primaria sin acceso a pruebas de neuroimagen y de estudio vascular complejas. Por eso, la disposición de una huella metabolómica relacionada con los hallazgos de neuroimagen es de elevado interés. Además, nuestras aportaciones en el campo de la tolerancia isquémica pueden contribuir al diseño de tratamientos de neuroprotección y a sus dianas moleculares. Finalmente, la fibrilación auricular es uno de los principales factores de riesgo para desarrollar un ictus isquémico. El estudio farmacogenético que hemos desarrollado permite identificar a los pacientes que claramente se benefician de recibir tratamiento de prevención primaria con los nuevos anticoagulantes directos y no con acenocumarol.

#### 4. Bibliografía

Mauri-Capdevila G, Jove M, Suarez-Luis I, Portero-Otin M, Purroy F.  
*Metabolomics in ischaemic stroke, new diagnostic and prognostic biomarkers.*  
Revista de Neurología. 2013;57:29-36.

Purroy F, Suarez-Luis I, Mauri-Capdevila G, et al.  
*N-terminal pro-brain natriuretic peptide level determined at different times identifies transient ischaemic attack patients with atrial fibrillation.*  
European Journal of Neurology. 2014;21:679-83.

Jove M, Mauri-Capdevila G, Suarez I, et al.  
*Metabolomics predicts stroke recurrence after transient ischemic attack.*  
Neurology. 2015;84:36-45.

Llombart V, Antolin-Fontes A, Bustamante A, et al.  
*B-type natriuretic peptides help in cardioembolic stroke diagnosis: pooled data meta-analysis.*  
Stroke. a Journal of Cerebral Circulation. 2015;46:1187-95.

Purroy F, Suarez-Luis I, Cambray S, et al.  
*The determination of copeptin levels helps management decisions among transient ischaemic attack patients.*  
Acta Neurologica Scandinavica. 2015.