

Reposicionamiento de Fármacos en la Enfermedad de Alzheimer: Una Aproximación *in silico* Basada en el Transcriptoma con Perspectiva de Sexo

Cristina Galiana Roselló

Máster Universitario en Bioinformática

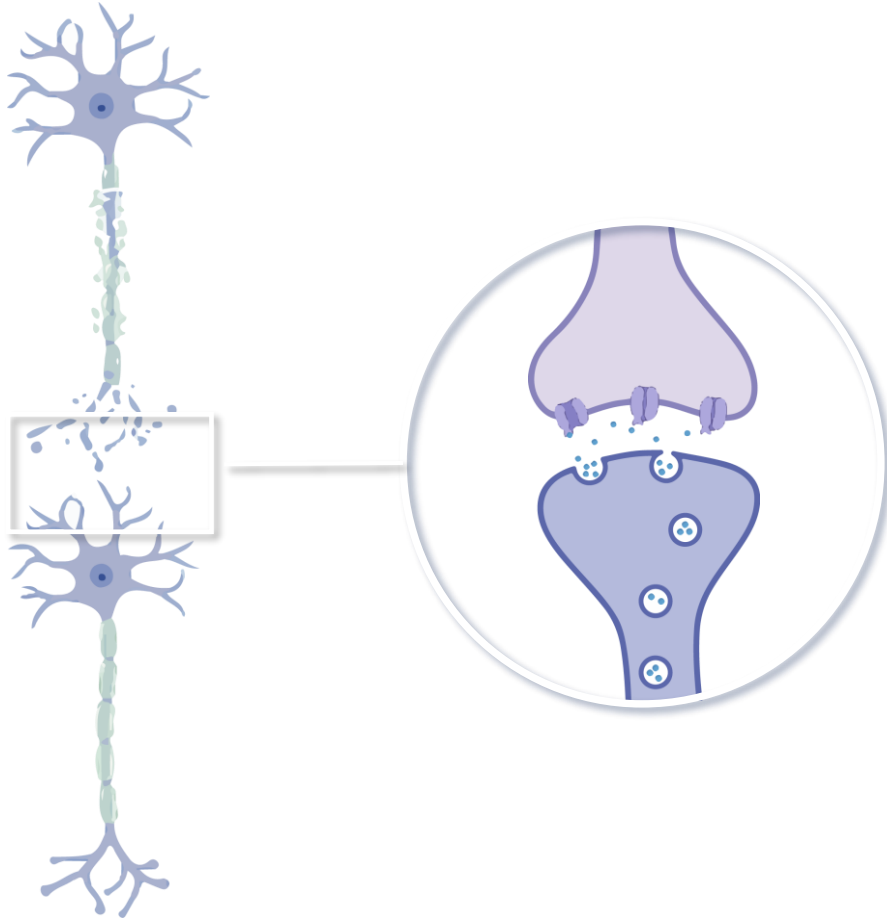
TUTORES: María Pascual Mora
Francisco García García
Isabel del Pino Pariente
Rubén Grillo Risco



01. INTRODUCCIÓN

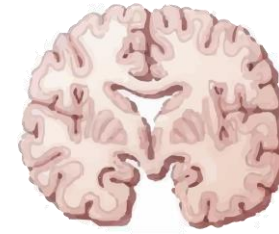


La Enfermedad de Alzheimer (EA)

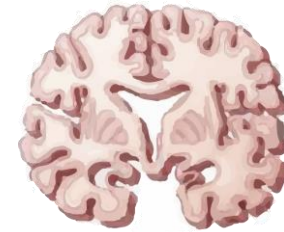


Muerte Neuronal

Disfunción Sináptica



Asintomática



Memoria episódica

Capacidad visuoespacial
y ejecutiva



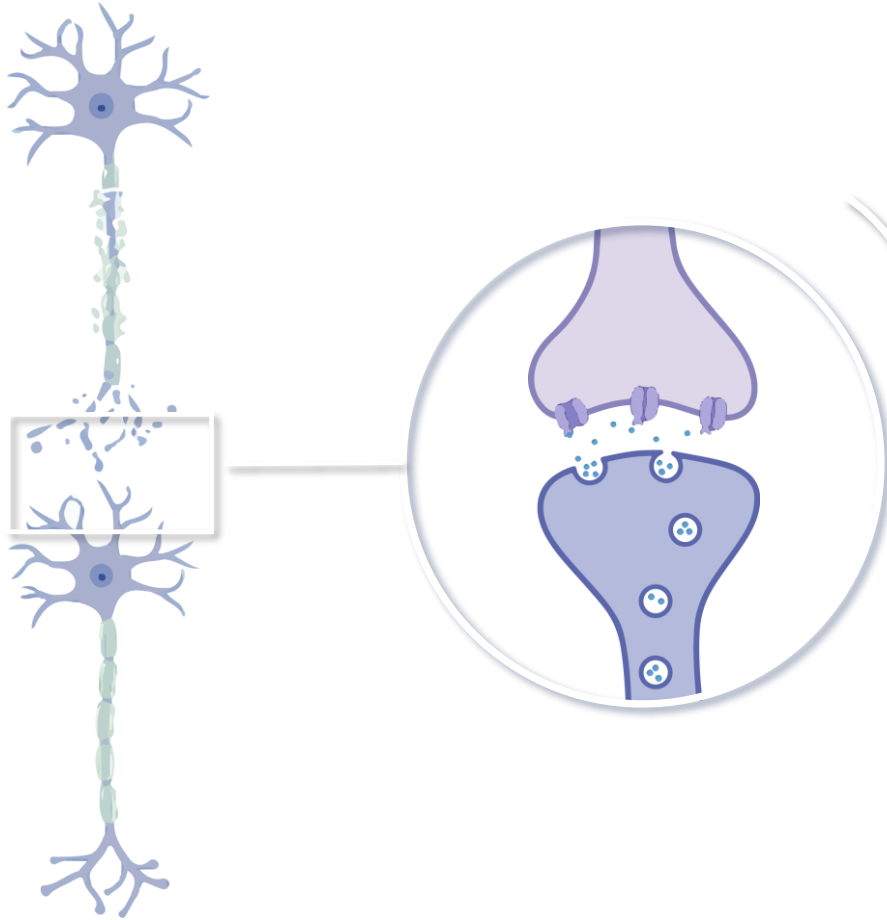
Lenguaje y emociones

Memoria semántica

DEMENCIA



La Enfermedad de Alzheimer (EA)



Muerte Neuronal

Disfunción Sináptica



- **Tratamiento Sintomático**

5 fármacos:

Donepezilo

Rivastigmina

Galantamina

Tacrina

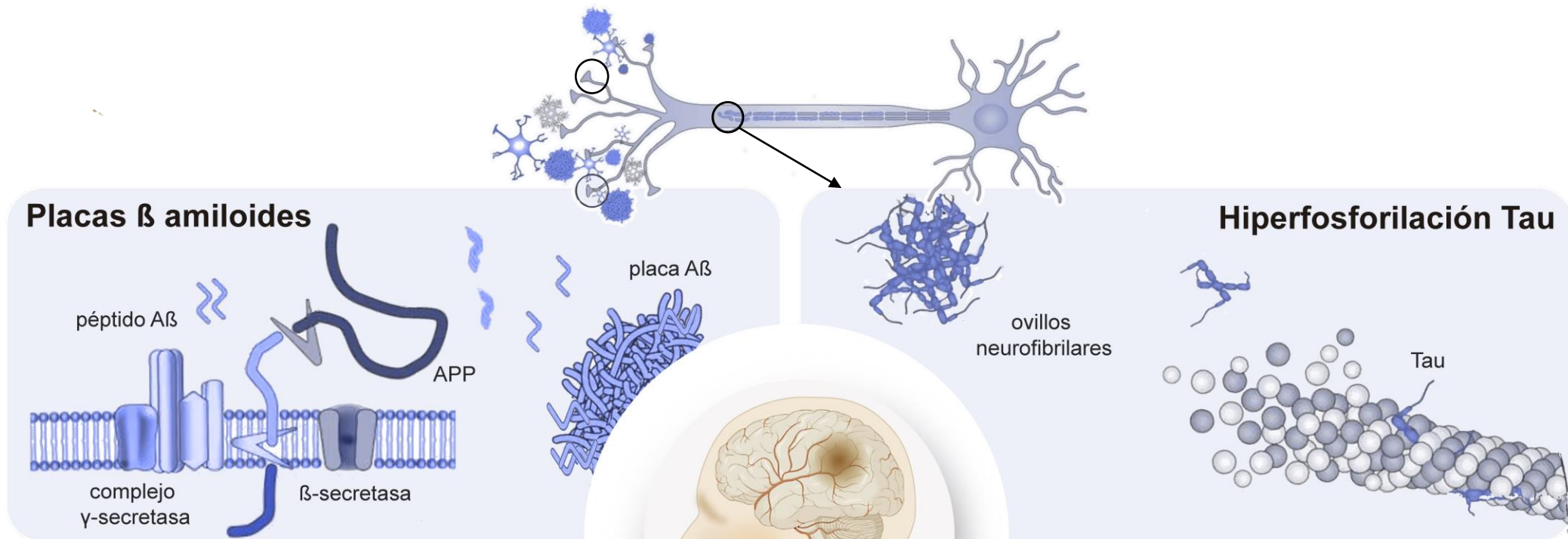
Memantina

- **Tasa de fallo terapéutico en los ensayos clínico en torno al 99%**



La Enfermedad de Alzheimer (EA)

Enfermedad compleja, pleiotrópica y heterogénea...





La Enfermedad de Alzheimer (EA)

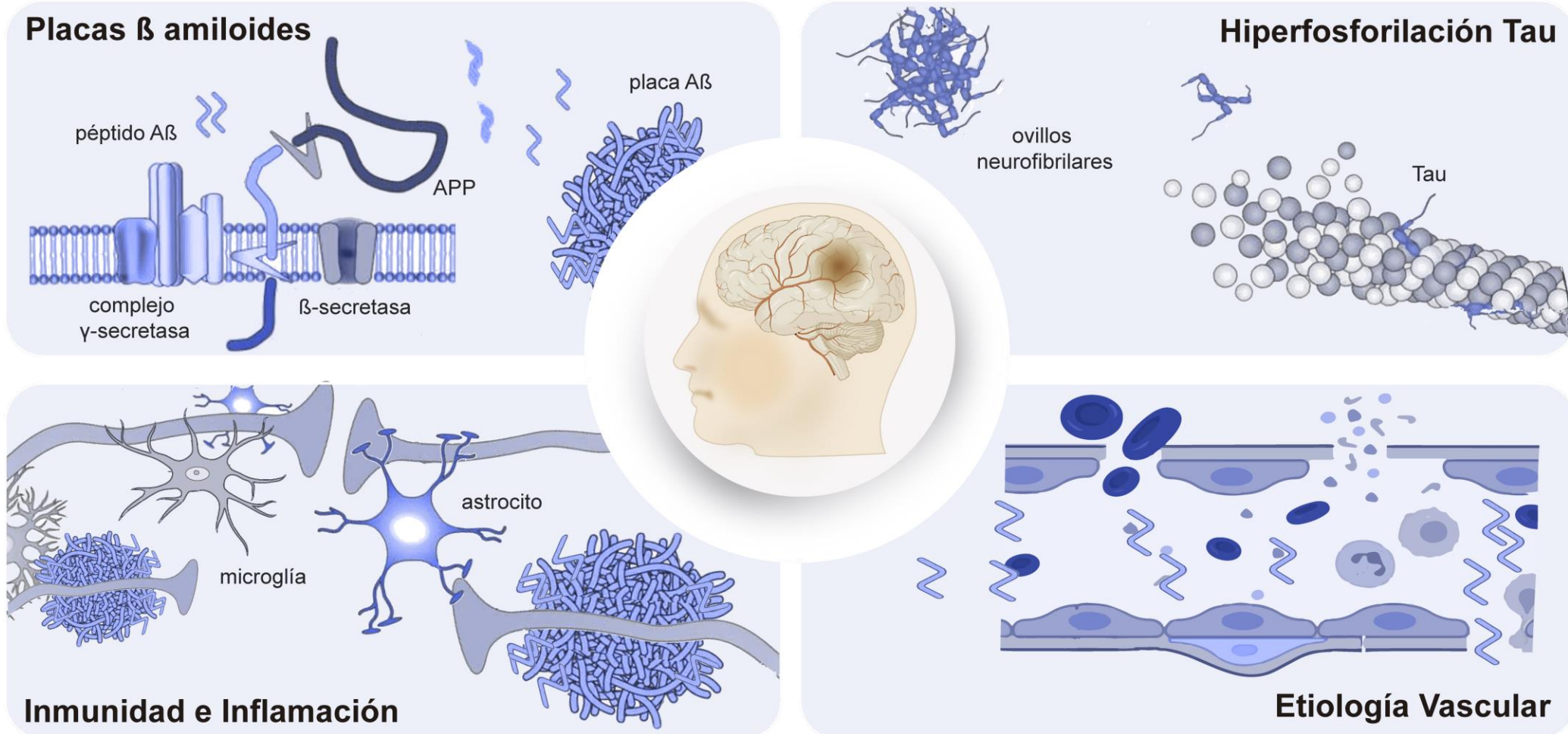
Enfermedad compleja, pleiotrópica y heterogénea...

....hasta 18 mecanismos patogénicos





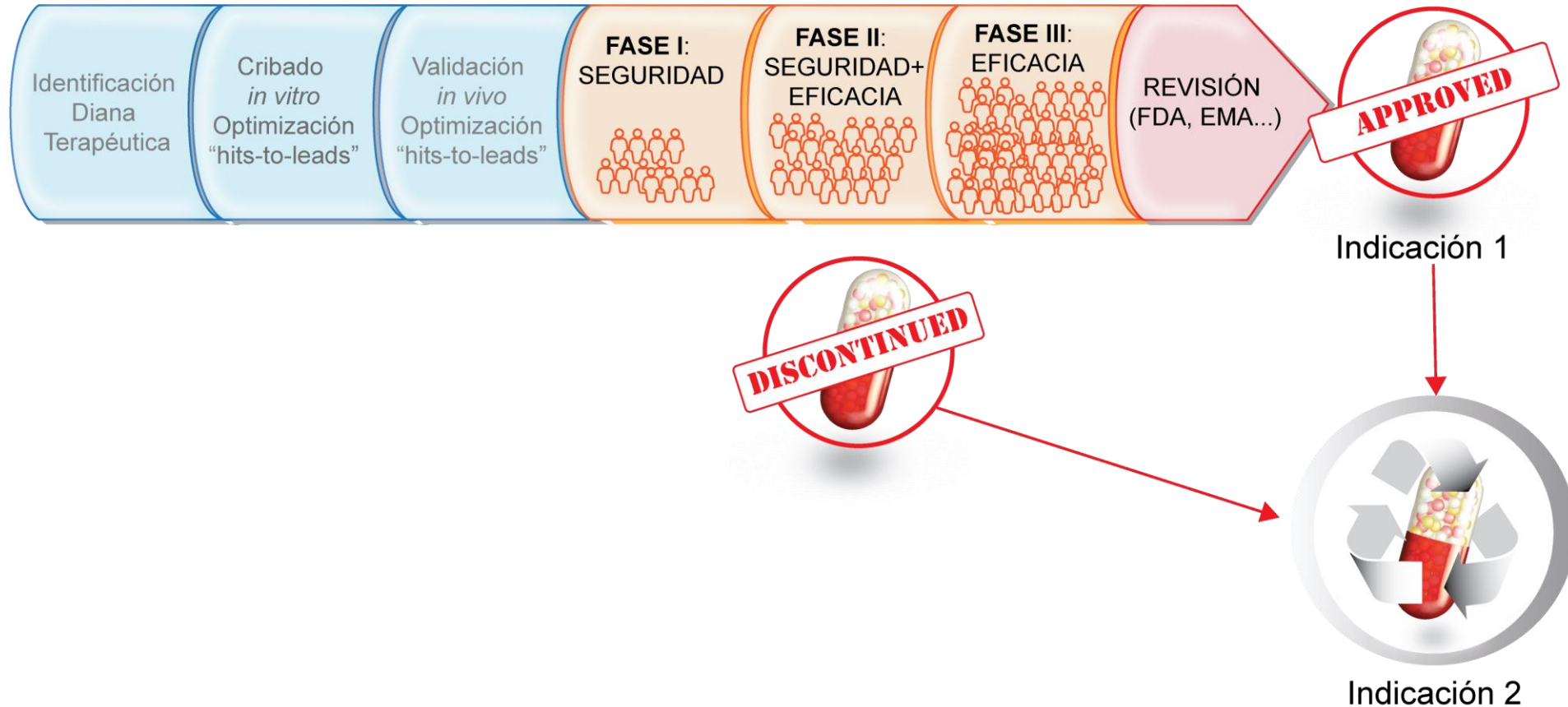
La Enfermedad de Alzheimer (EA)





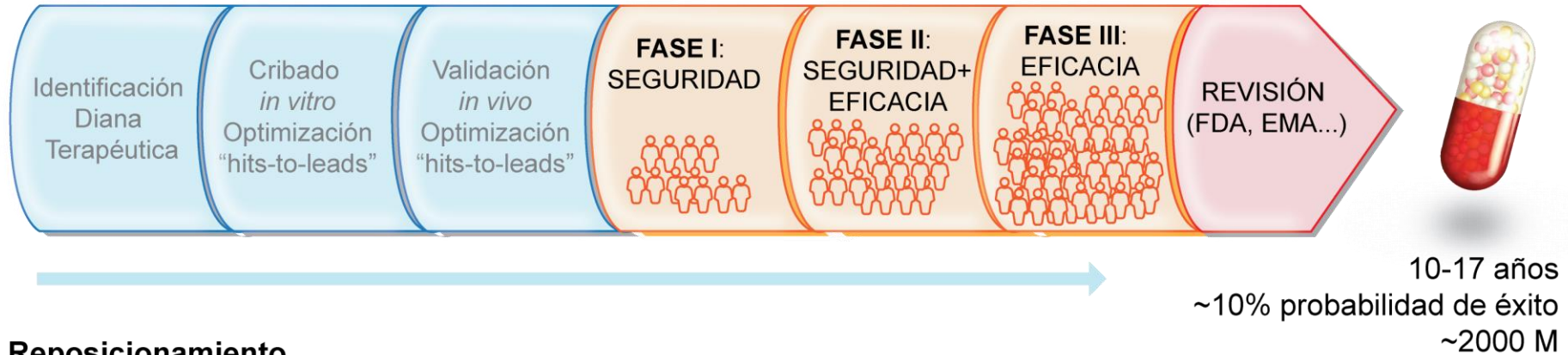
Reposicionamiento de fármacos *in silico*

Desarrollo de nuevos fármacos

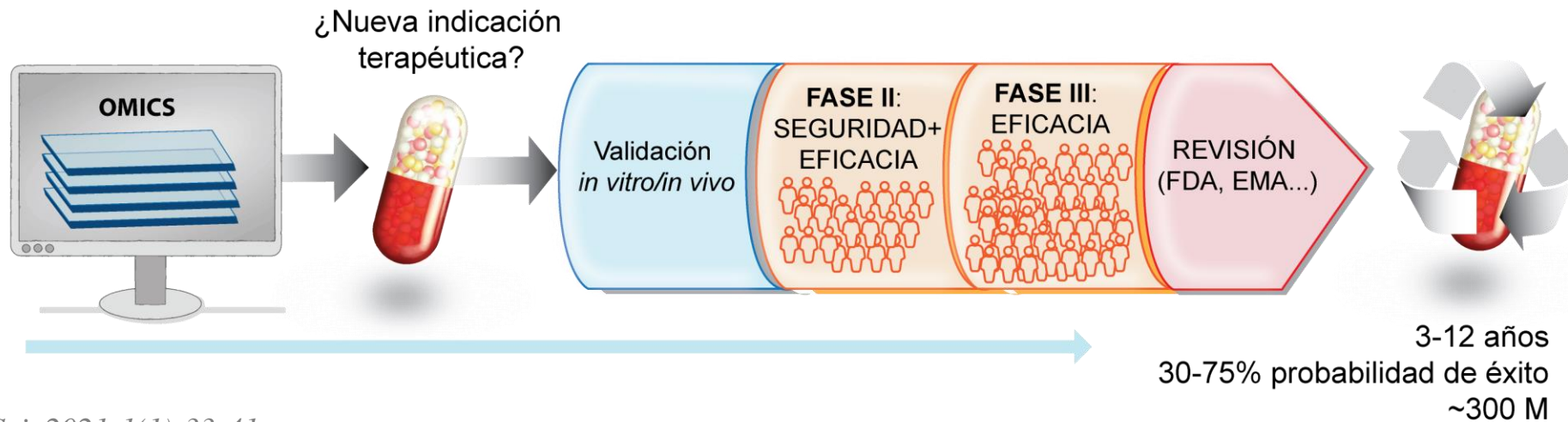


Reposicionamiento de fármacos *in silico*

Desarrollo de nuevos fármacos



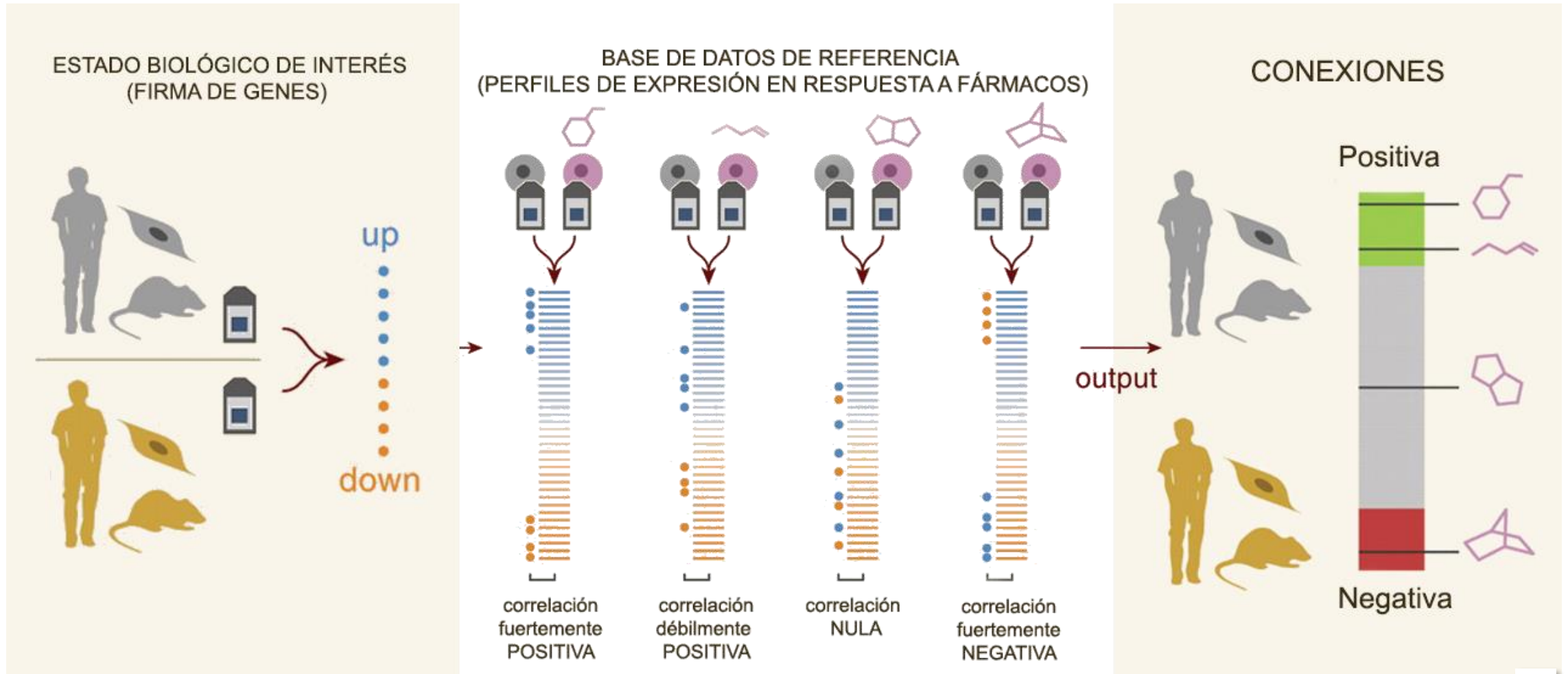
Reposicionamiento





Reposicionamiento de fármacos *in silico*

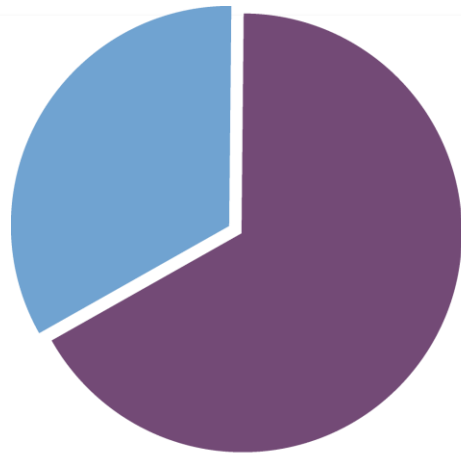
Connectivity Map (CMap)



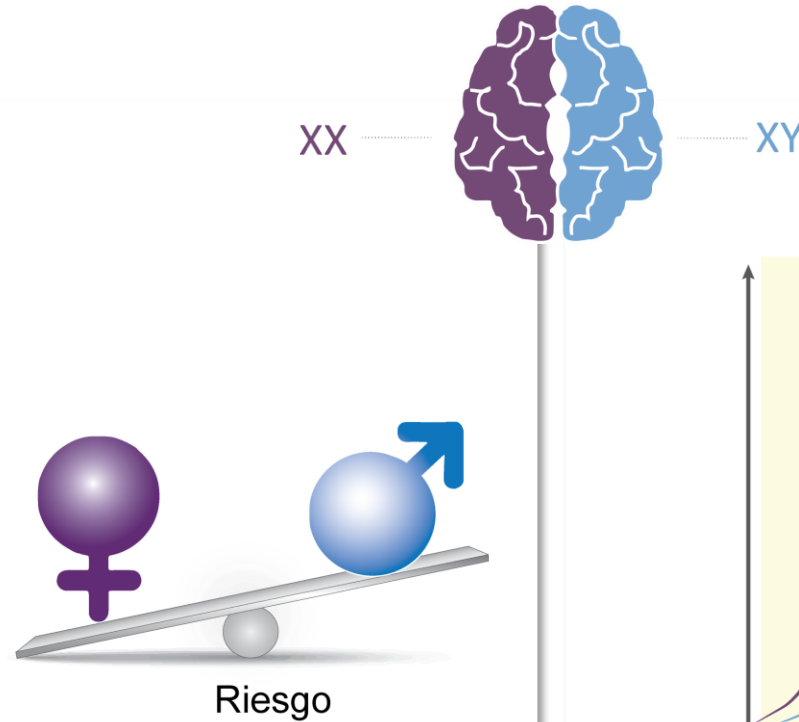
Science. 2006;313(5795):1929-1935, *Cell*. 2017;171(6):1437-1452

Dimorfismo Sexual en la EA: Indicadores

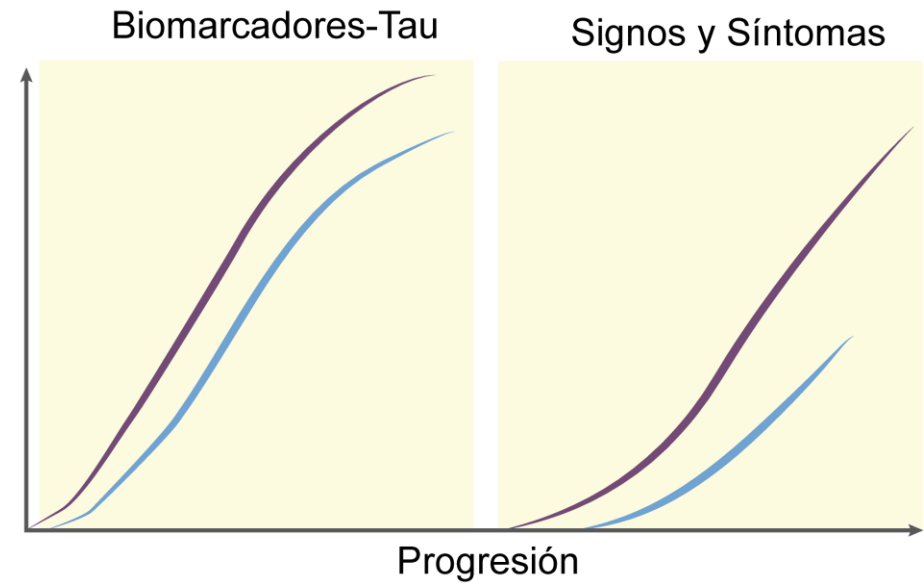
Epidemiológicos



Población con EA



Clínicos



Moleculares

Firmas transcripcionales inmunes y metabólicas específicas de sexo



02.

OBJETIVO

Identificar potenciales estrategias terapéuticas para el tratamiento de la EA, mediante el **reposicionamiento o reutilización *in silico* de fármacos**, desde una perspectiva diferencial **por sexos**



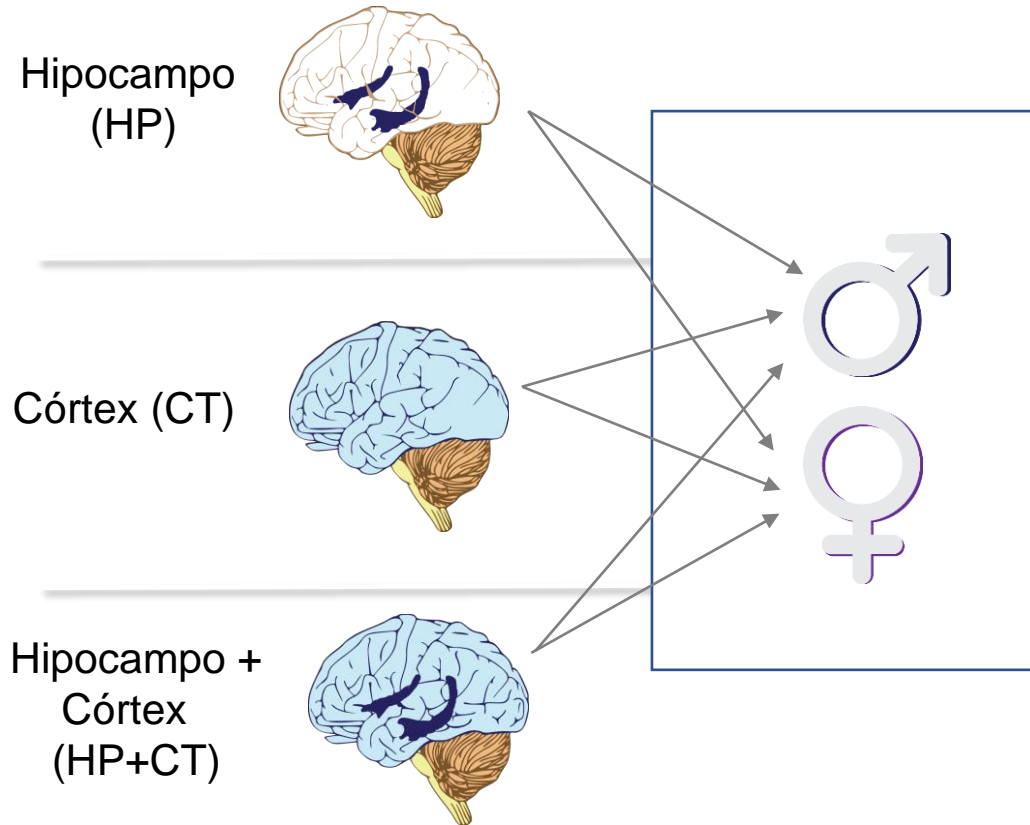


03.

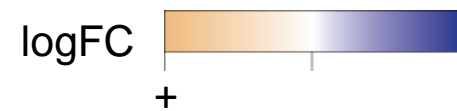
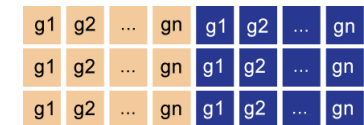
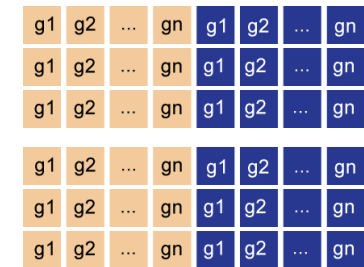
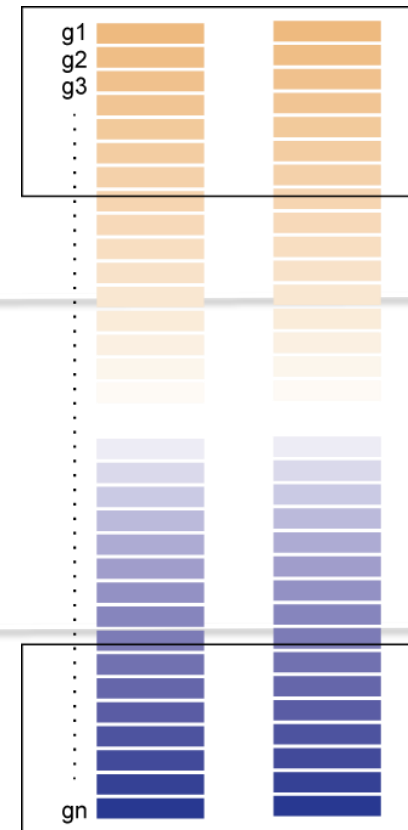
Material y Métodos



Firma de genes de pacientes EA



Perfiles consenso derivados de un **metanálisis**



02.

Perfiles de expresión génica diferencial inducidos por fármacos (PEGf)

Descarga

Criterios de Selección

Análisis Exploratorio

Análisis de Expresión Diferencial

**CLUE**

~ 3 M

*Metadata files.txt**GCTx matrix Treatments**GCTx matrix vehicle*

Perfiles de expresión génica diferencial inducidos por fármacos (PEGf)

Descarga

Criterios de Selección

Análisis Exploratorio

Análisis de Expresión Diferencial



CLUE



~ 3 M

Metadata files.txt
GCTx matrix Treatments
GCTx matrix vehicle

Espacio génico

AIG: 12.328

BING: 10.174

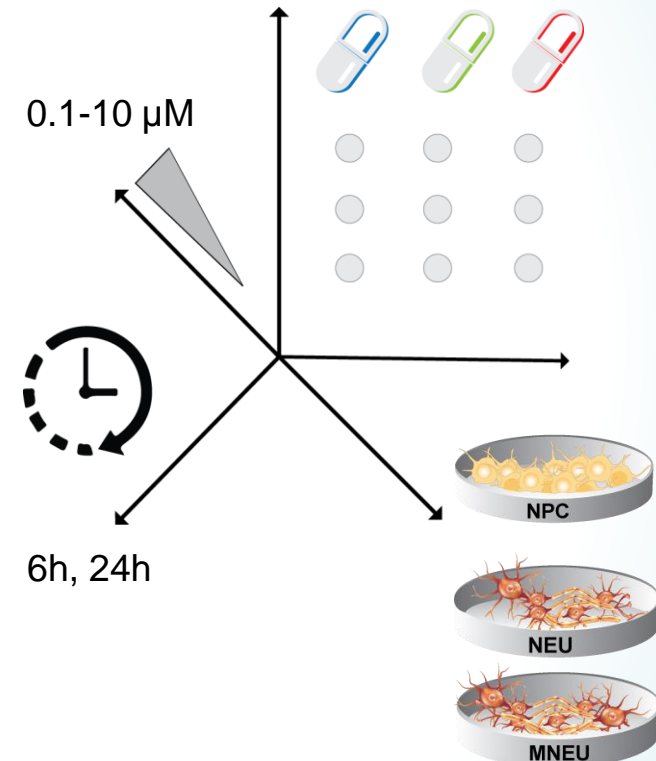
978 LG

AIG (All Inferred Genes)

BING (Best Inferred Genes)

Landmark Genes (LG)

Tratamientos



Perfiles de expresión génica diferencial inducidos por fármacos (PEGf)

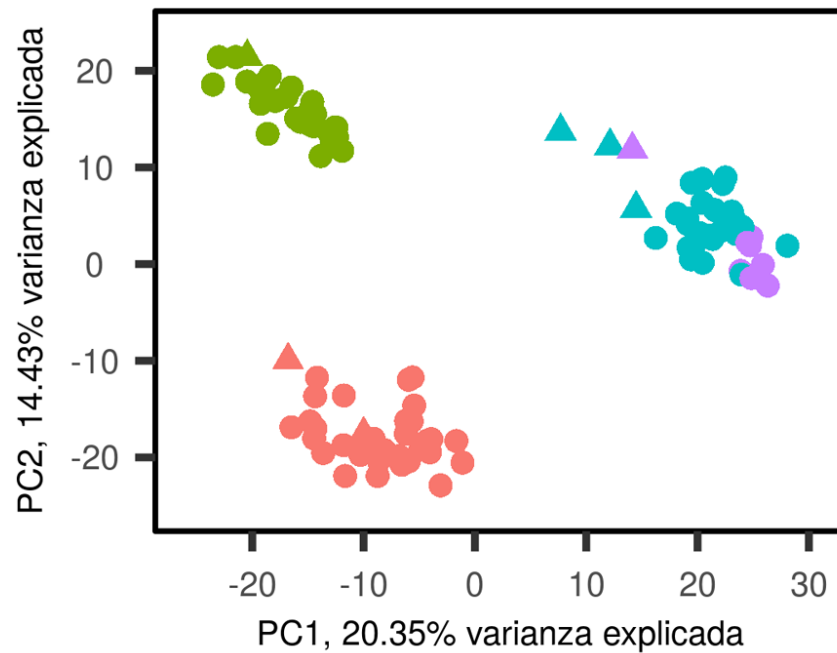
Descarga

Criterios de Selección

Análisis Exploratorio

Análisis de Expresión Diferencial

Batch_id: Fase del Proyecto/grupo - línea celular - tiempo

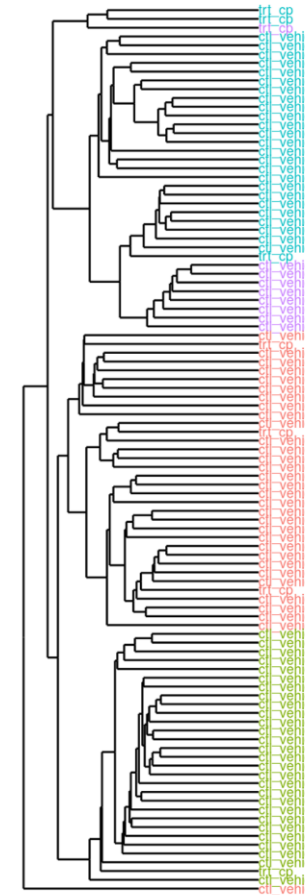


batch_id

- CPC012_NEU_24H
- LJP008_NEU_24H
- NMH001_NEU_24H
- NMH002_NEU_24H

pert_type

- ctl_vehicle
- ▲ trt_cp



Distancia euclídea



Correlación Pearson

02.

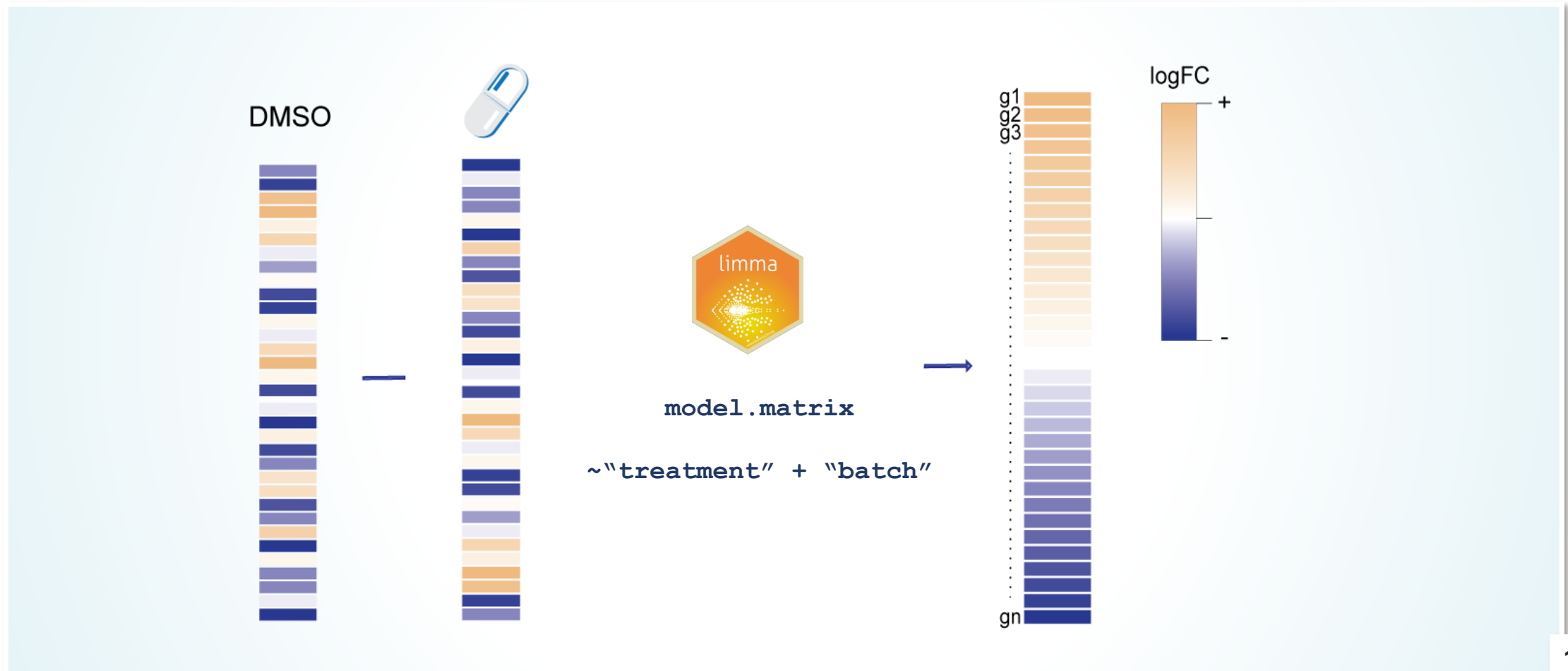
Perfiles de expresión génica diferencial inducidos por fármacos (PEGf)

Descarga

Criterios de Selección

Análisis Exploratorio

Análisis de Expresión Diferencial



03.

Métricas de similitud y puntajes de conectividad

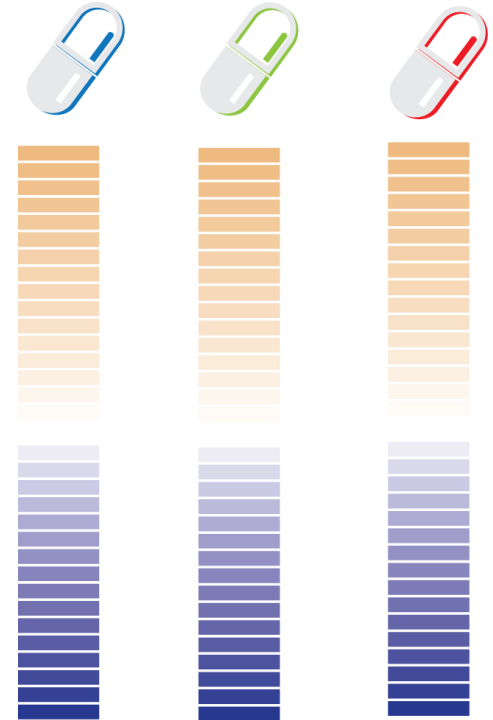
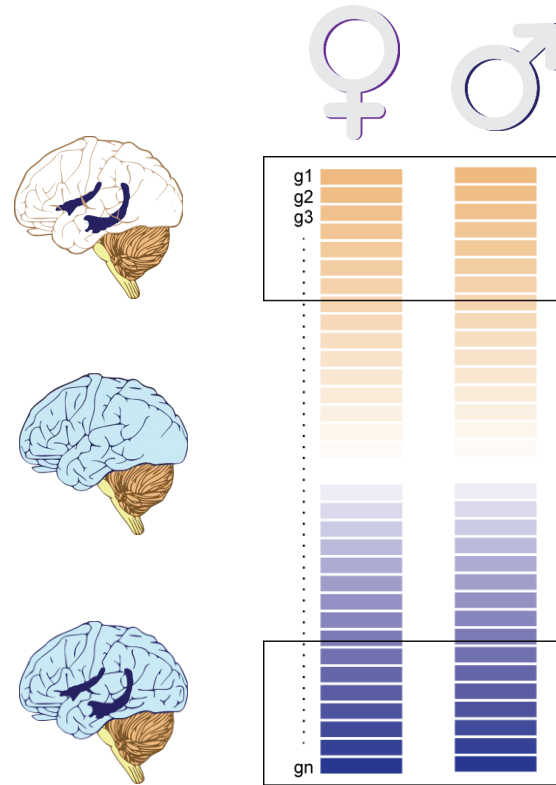
CMap1

CMap2

CSS o ZhangScore

CSS (*Connection Strength Score*)

XSum



03.

Métricas de similitud y puntajes de conectividad

CMap1

Posición g_i

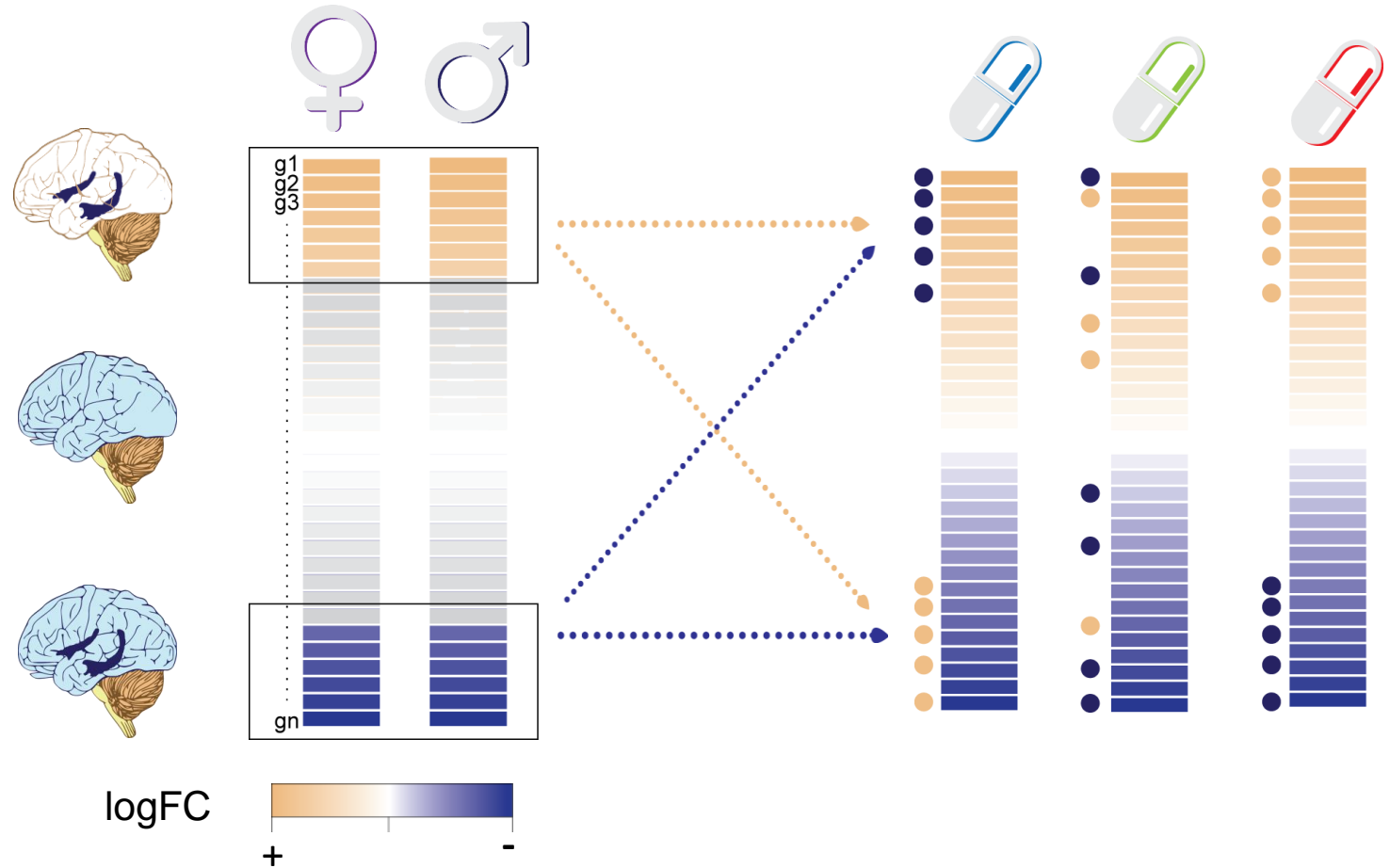
CMap2

Posición g_i + magnitud (logFC)

CSS o ZhangScore

Posición g_i

XSum



03.

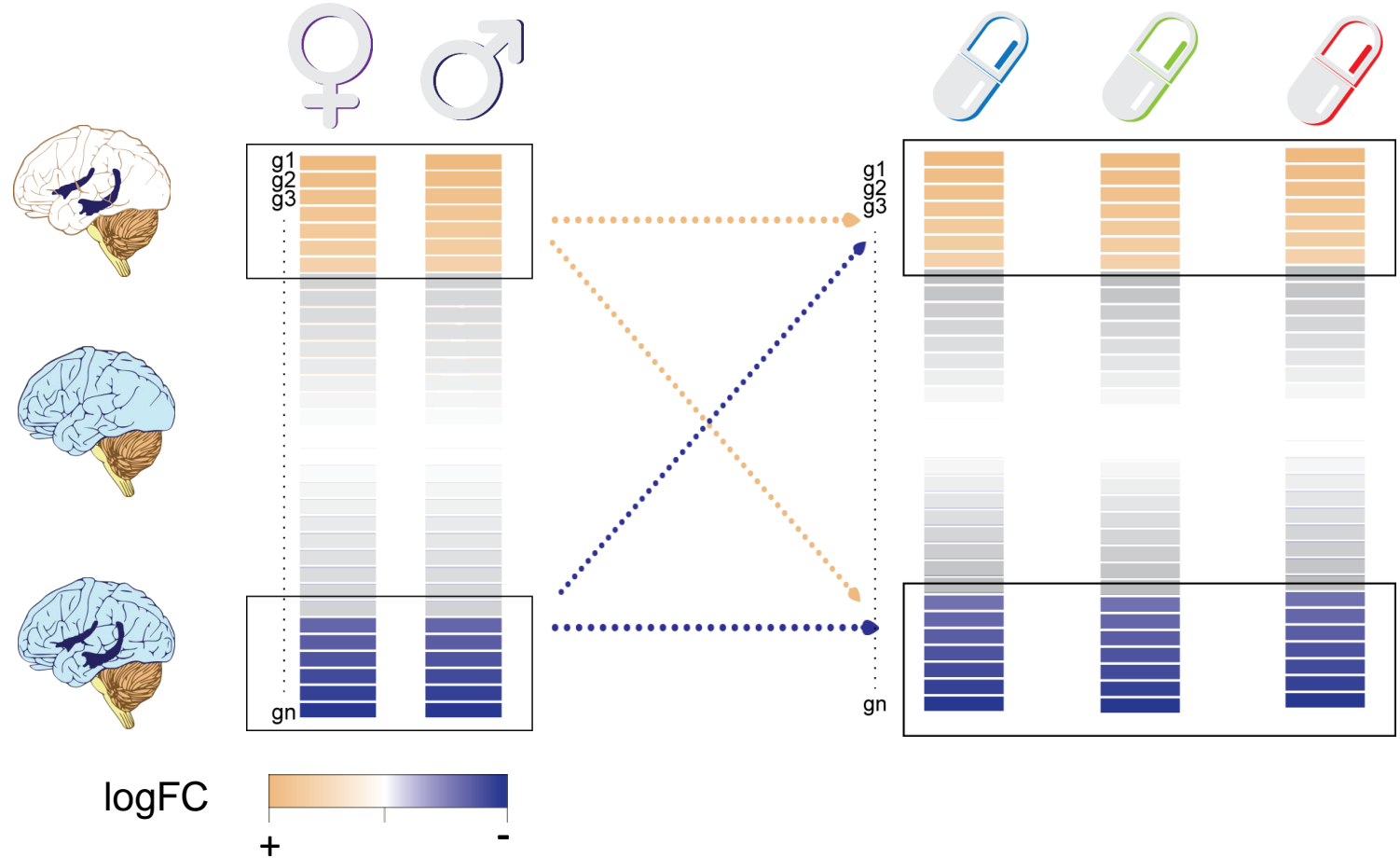
Métricas de similitud y puntajes de conectividad

CMap1

CMap2

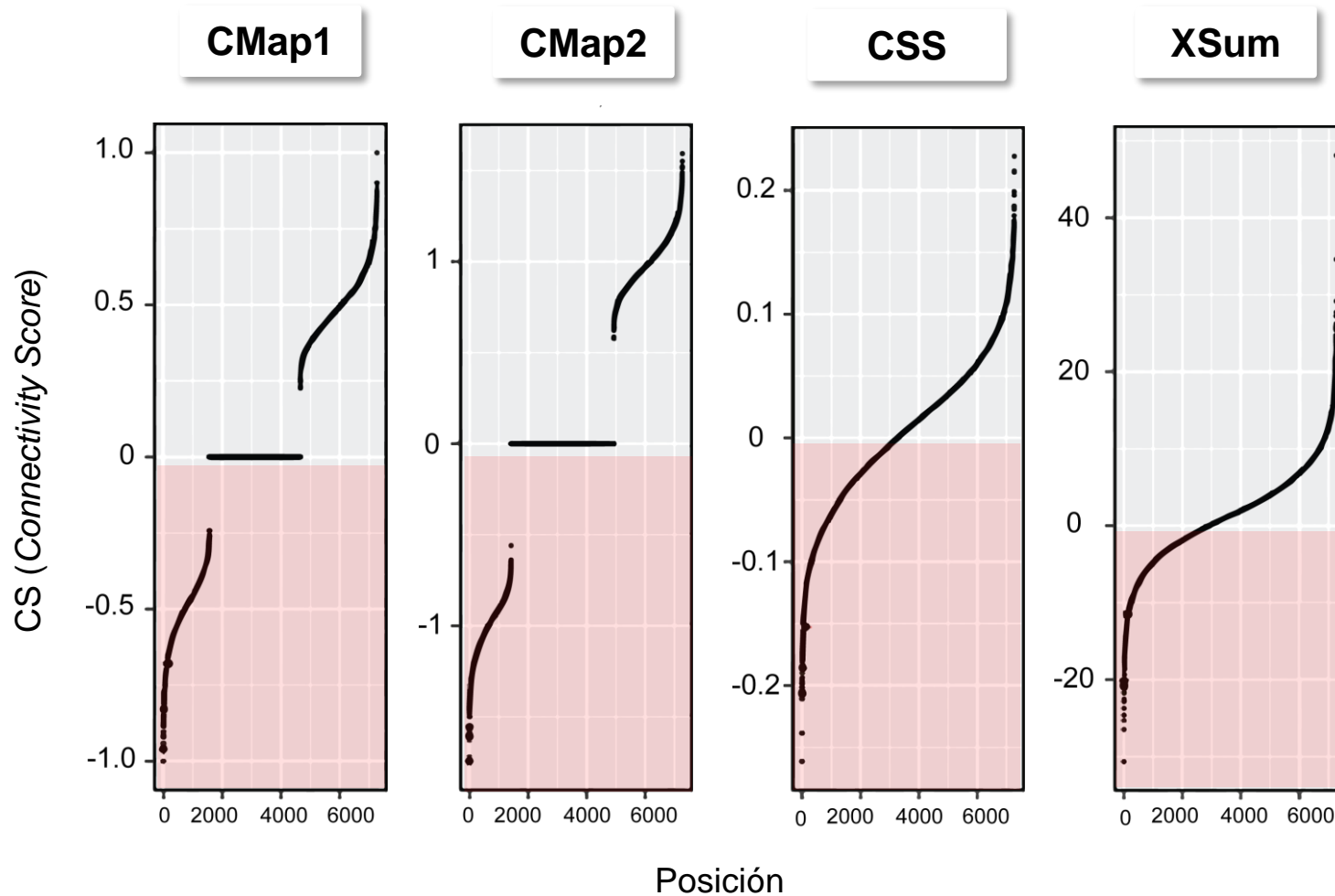
CSS o ZhangScore

XSum



03.

Métricas de similitud y puntajes de conectividad



PEGf

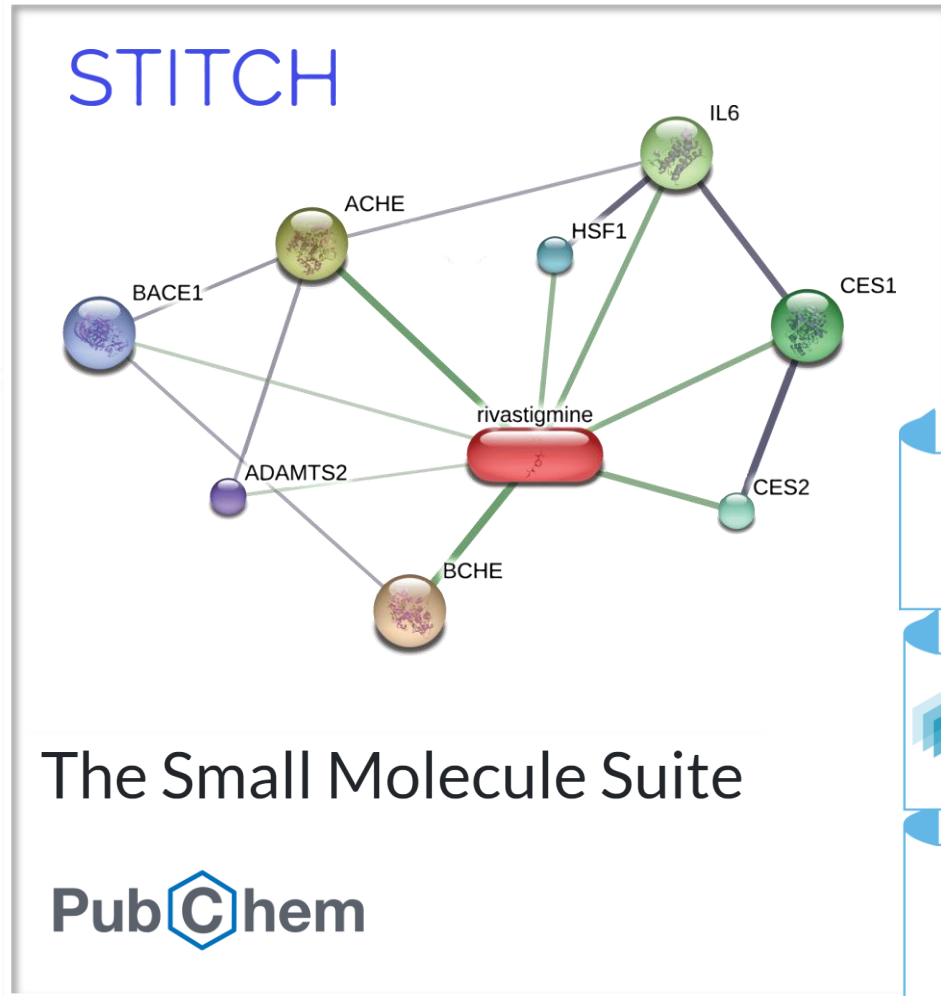
- $CS < 0$
- $FDR < 0.05$
- ≥ 2 métricas



Frec.	PEGf
4	PEGf ₁
4	PEGf ₂
3	PEGf ₃
3	PEGf ₄
:	:
2	PEGf _i

04.

Análisis de Enriquecimiento Funcional-ORA



The Small Molecule Suite

PubChem



05.



Evidencia Clínica/Preclínica

ClinicalTrials.gov

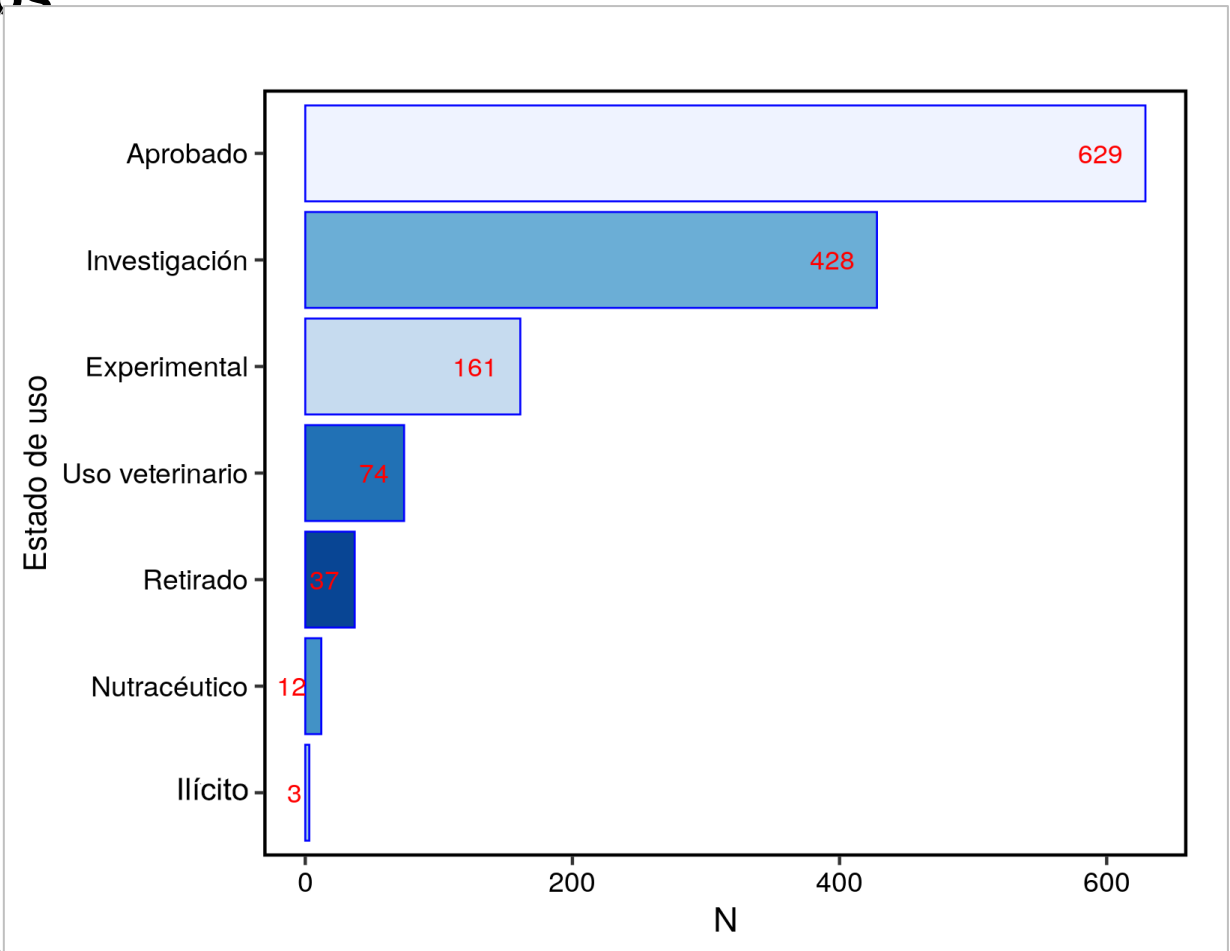
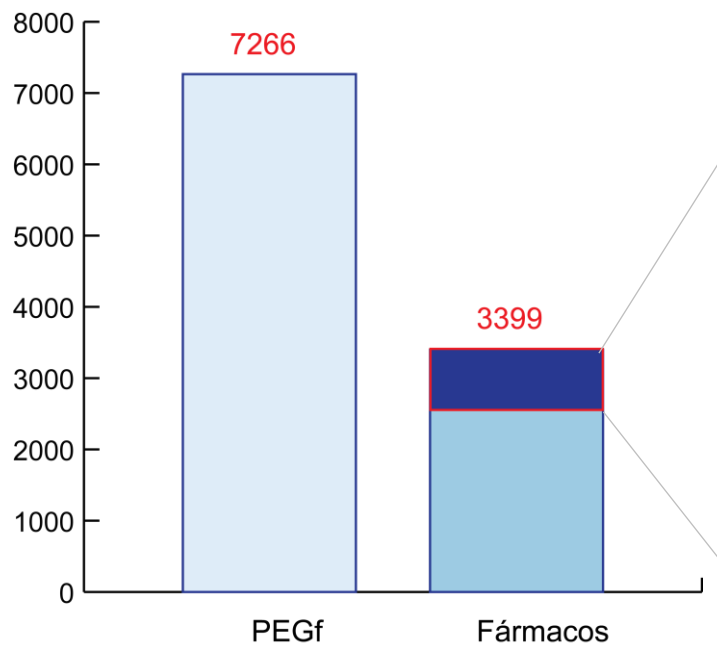




04. Resultados y Discusión

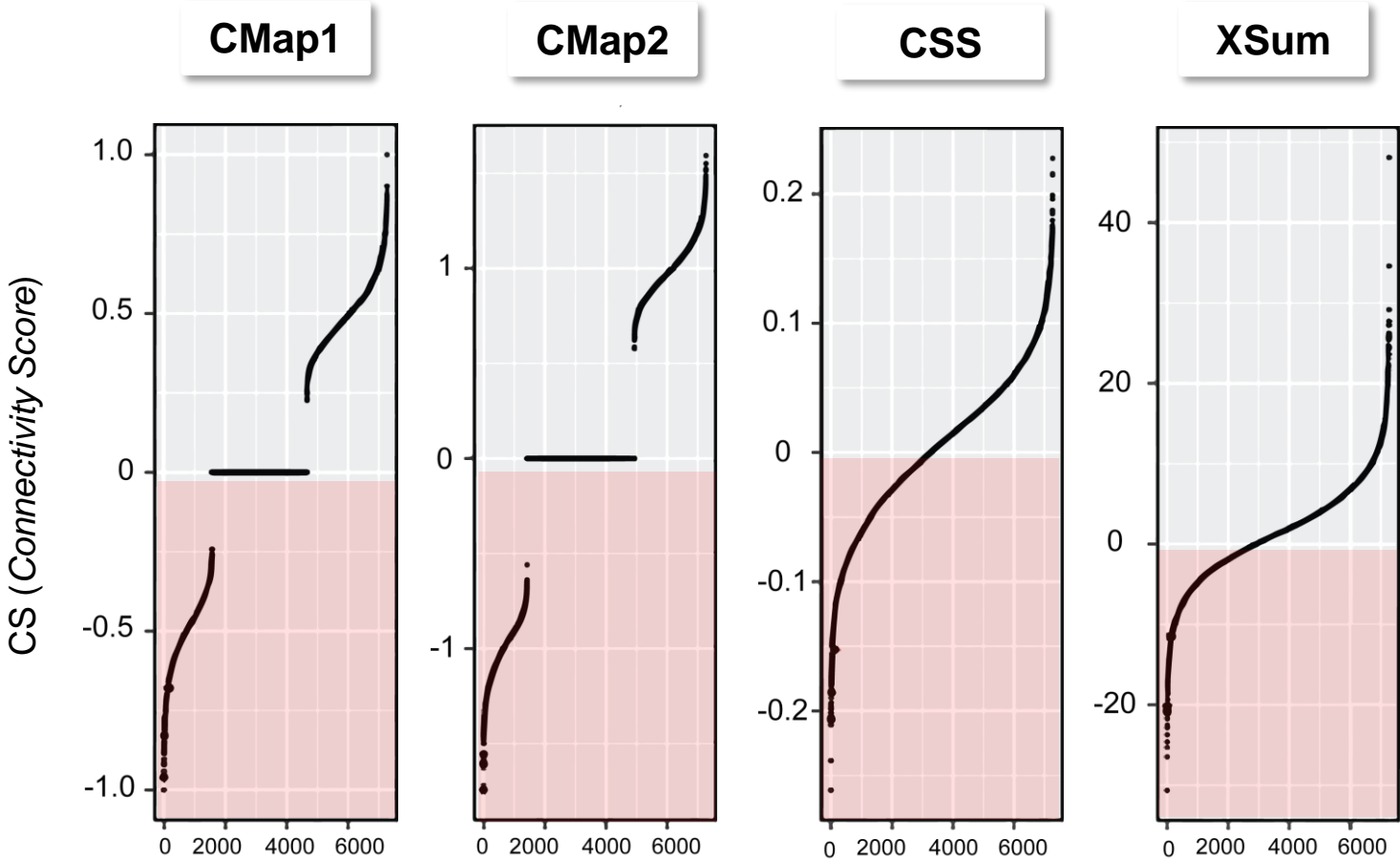


Características de la librería de fármacos



Librería de Nuevas Entidades Moleculares o “en experimentación”

Conectividad enfermedad-fármaco: Comparación entre métricas

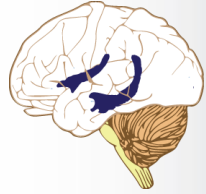


- PEGf**
- $CS < 0$
 - $FDR < 0.05$
 - ≥ 2 métricas

↓

Frec.	PEGf
4	PEGf ₁
4	PEGf ₂
3	PEGf ₃
3	PEGf ₄
:	:
2	PEGf _i

Conectividad enfermedad-fármaco: Comparación entre métricas

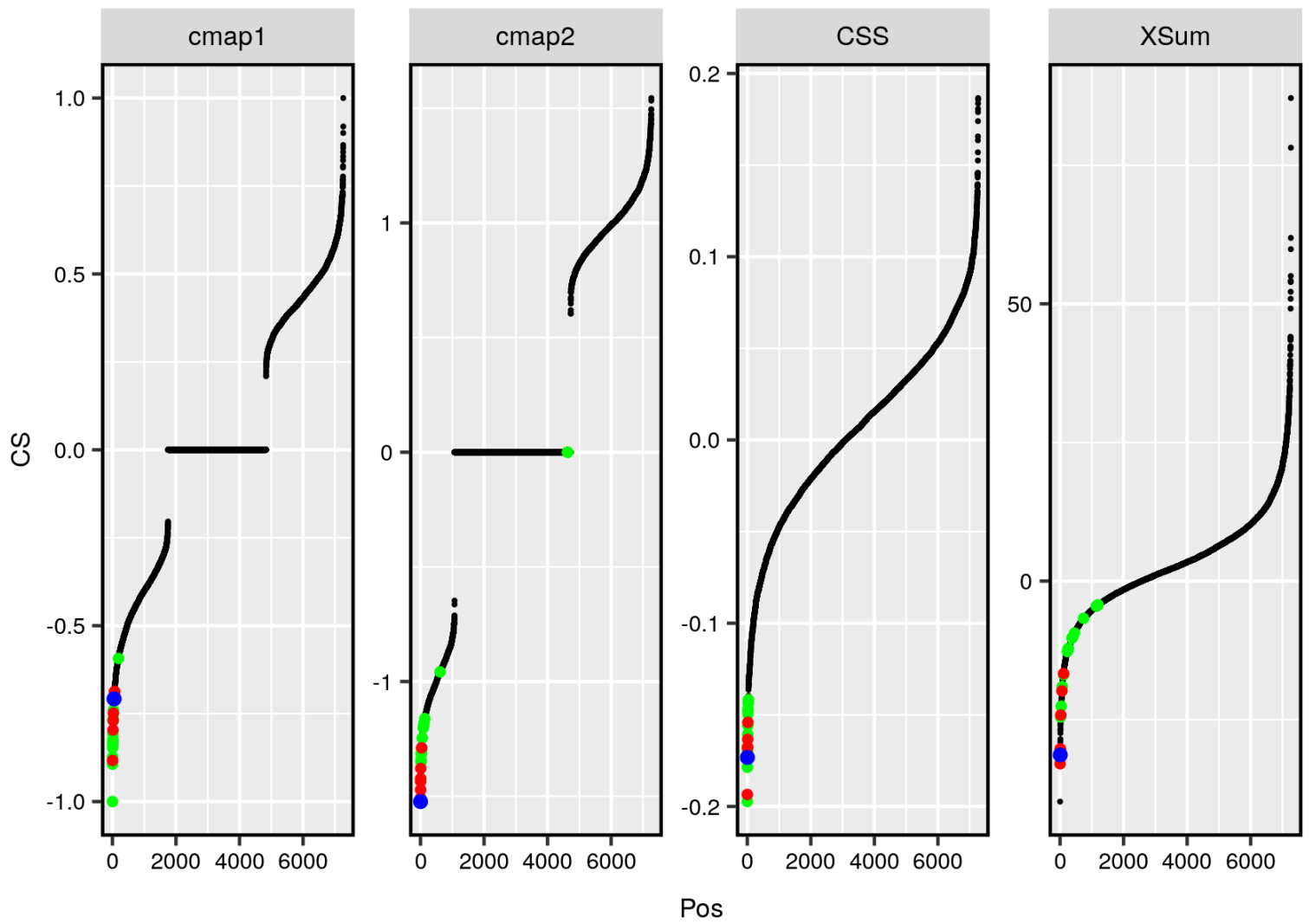
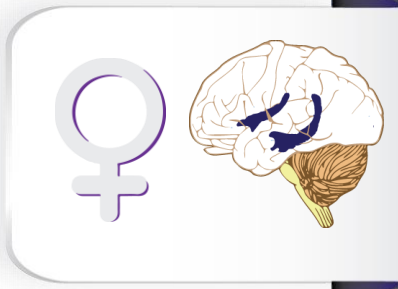


Posición (puntaje de conectividad)

PEGf	Frec.	Fármaco	Conc.	t	Línea Celular	CMap1	CMap2	CSS	XSum
1	4	flumetasone	10uM	24h	NEU	44 (-0.71)	1 (-1.52)	4 (-0.17)	2 (-31.36)
2	3	adapalene	10uM	24h	NEU	22 (-0.77)	-	10 (-0.17)	5 (-19.82)
3	3	GW-5074	0.12uM	24h	NEU	-	2 (-1.51)	6 (-0.17)	4 (-30.27)
4	3	KIN001-260	3.33uM	24h	NEU	27 (-0.75)	-	9 (-0.17)	1 (-32.95)
5	3	KW-2449	0.12uM	24h	MNEU	-	4 (-1.42)	17 (-0.15)	6 (-16.69)
6	3	TAK-715	1.11uM	24h	NEU	3 (-0.88)	-	2 (-0.19)	3 (-30.32)
7	3	tranilast	10uM	24h	NPC	15 (-0.8)	3 (-1.44)	13 (-0.16)	-
8	2	AST-1306	0.12uM	24h	MNEU	4 (-0.87)	-	5 (-0.17)	-
9	2	VX-745	0.37uM	24h	NEU	-	5 (-1.29)	23 (-0.14)	-
.									
.									
20									



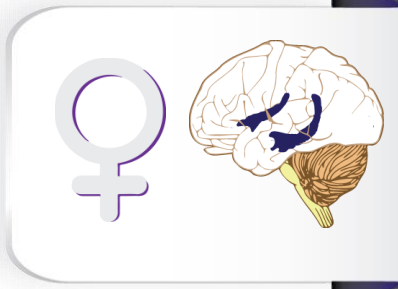
Conectividad enfermedad-fármaco: Comparación entre métricas



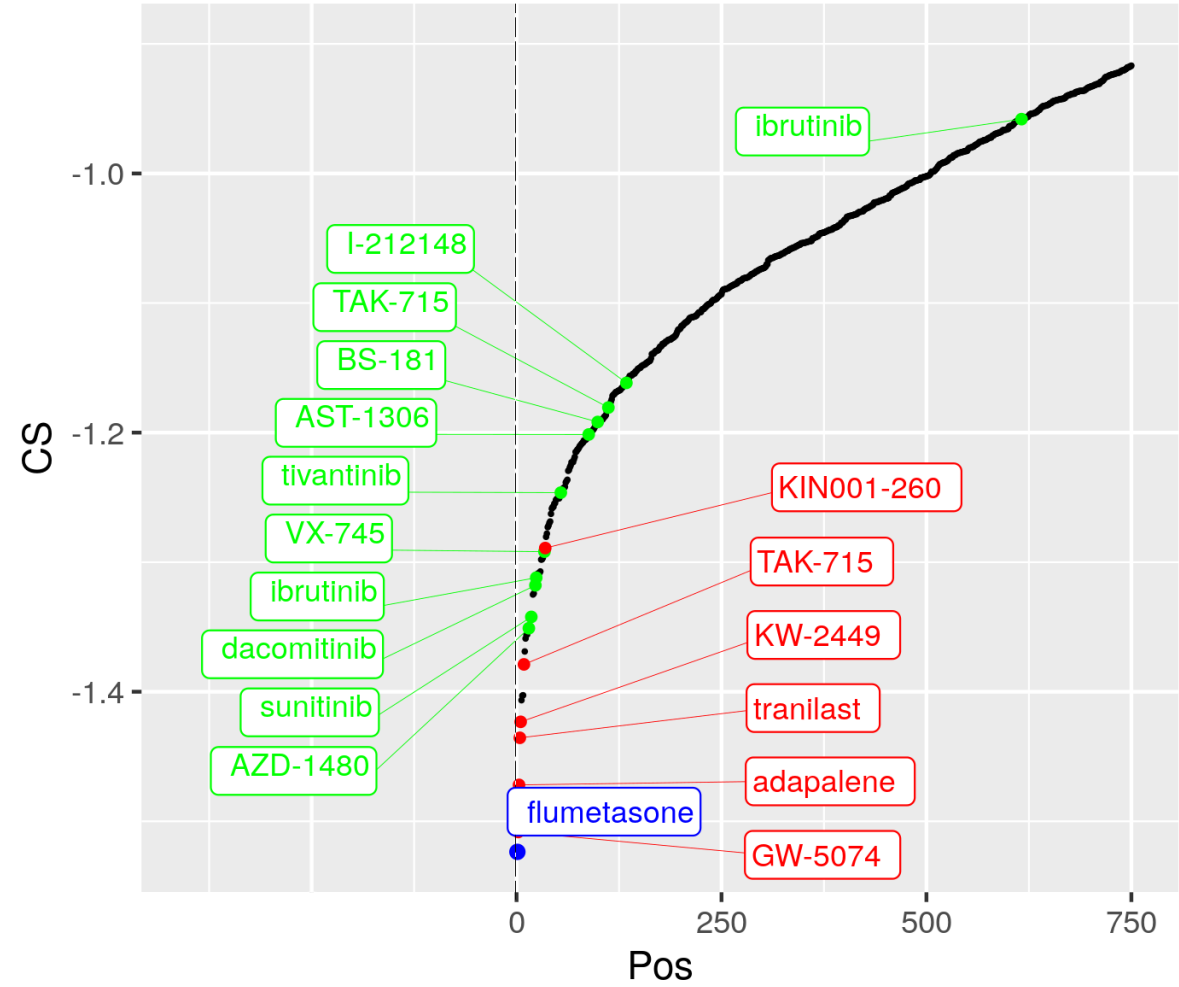
Frecuencia

- Blue dot: 4
- Red dot: 3
- Green dot: 2

Conectividad enfermedad-fármaco: Comparación entre métricas



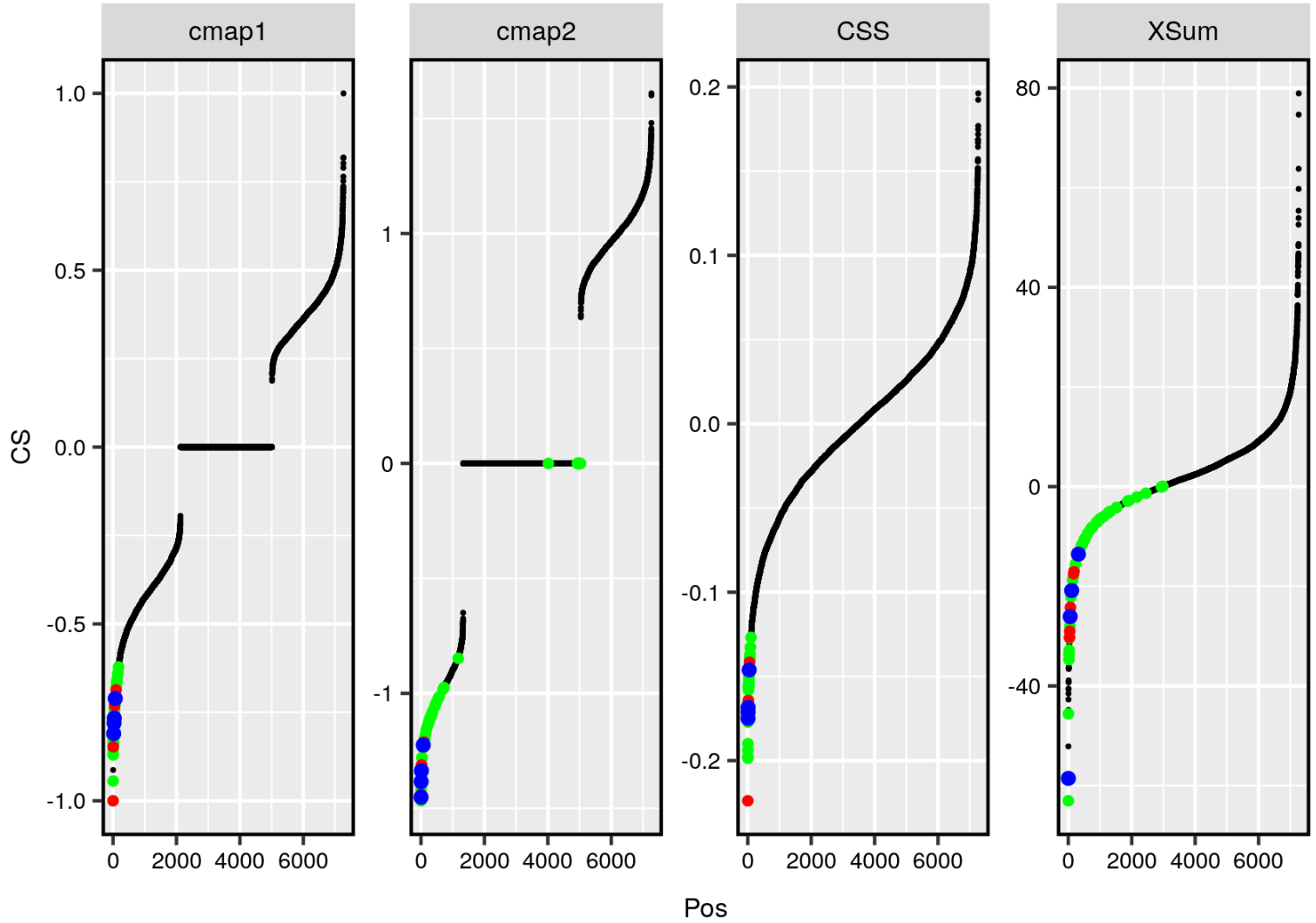
Frec.	Fármaco
4	flumetasone
3	adapalene
3	GW-5074
3	KIN001-260
3	KW-2449
3	TAK-715
3	tranilast
2	AST-1306
2	VX-745



Frecuencia

- : 4
- : 3
- : 2

Conectividad enfermedad-fármaco: Comparación entre métricas

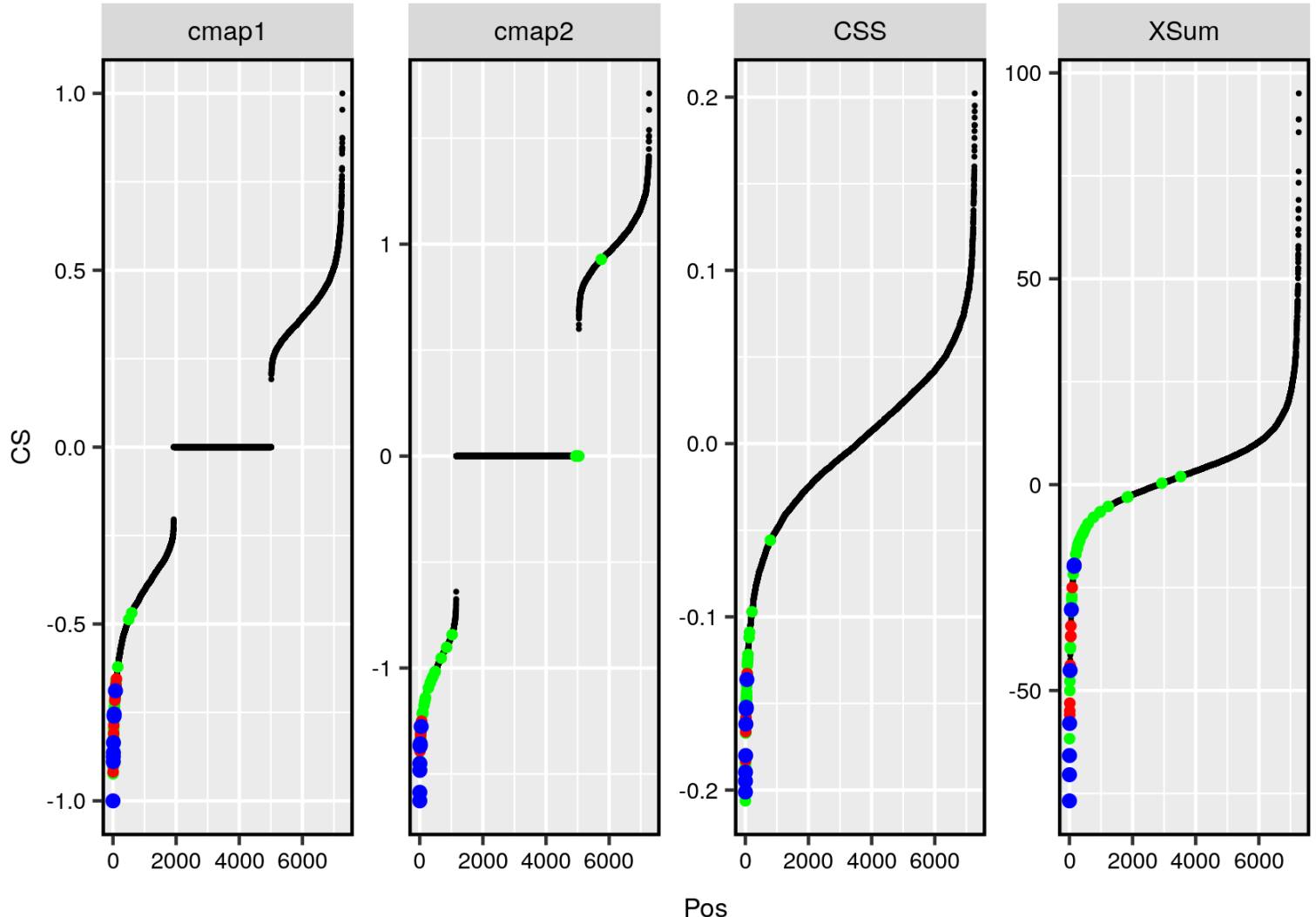


Frecuencia

- Blue dot: 4
- Red dot: 3
- Green dot: 2



Conectividad enfermedad-fármaco: Comparación entre métricas

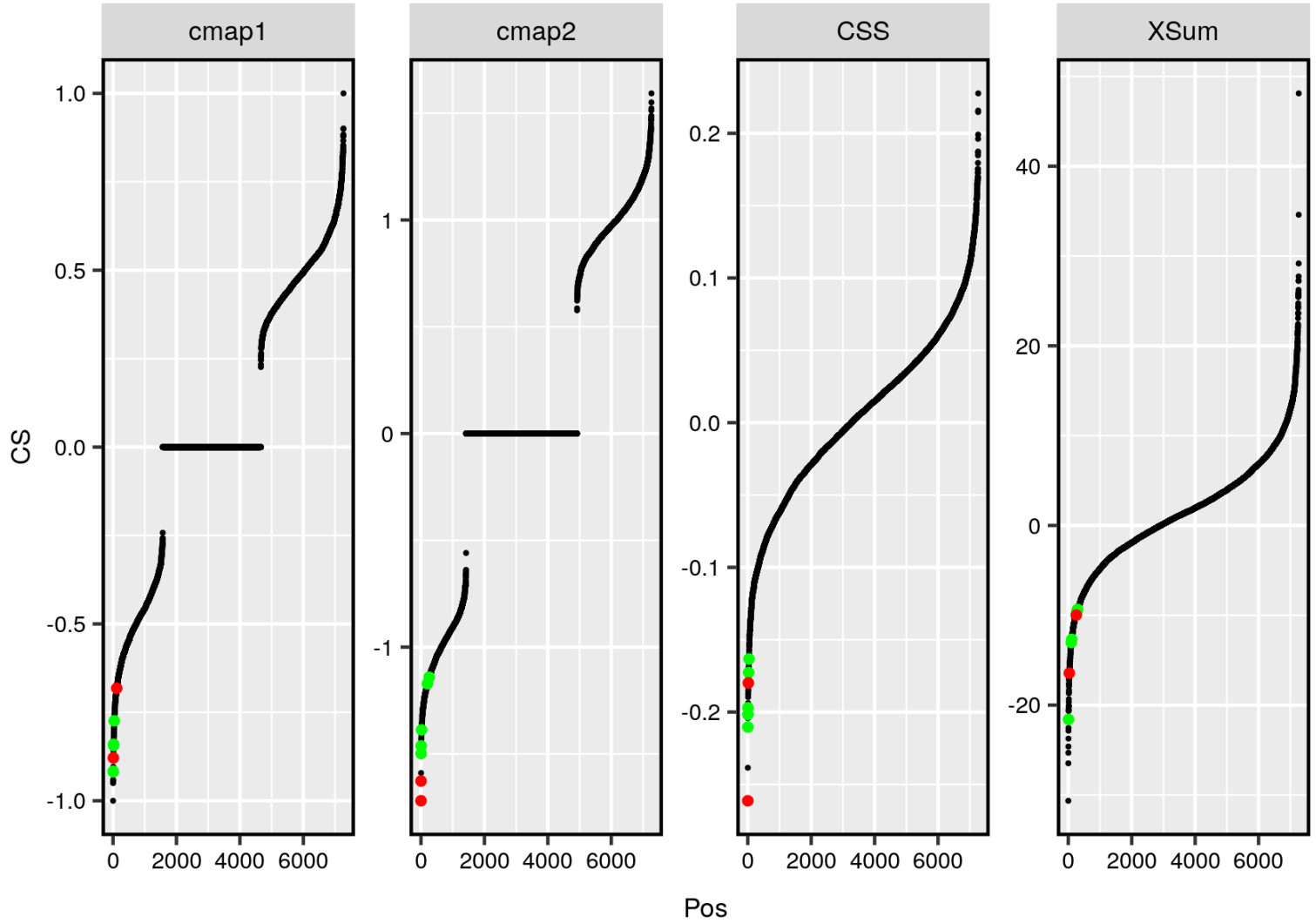
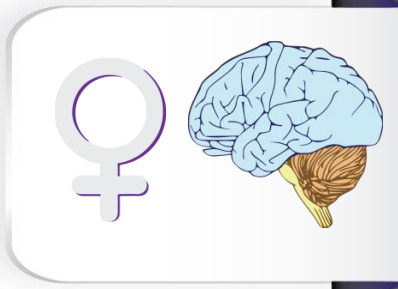


Frecuencia

- : 4
- : 3
- : 2



Conectividad enfermedad-fármaco: Comparación entre métricas

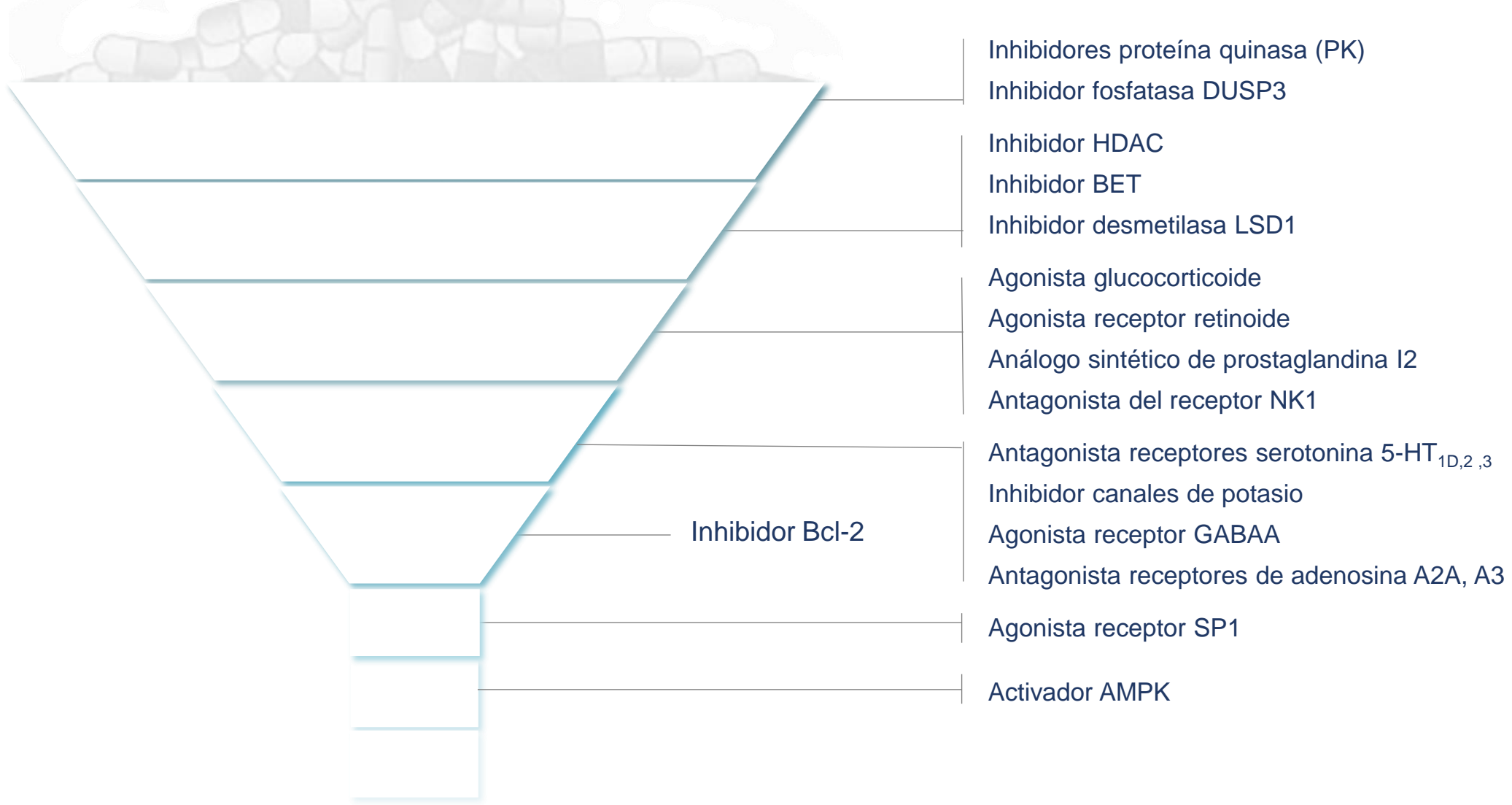


Frecuencia

- : 4
- : 3
- : 2



Fármacos: Categorías terapéuticas / MOA identificados





Fármacos: Categorías terapéuticas / MOA identificados

Reguladores del fosfoproteoma

Inhibidores proteína quinasa (PK)
Inhibidor fosfatasa DUSP3

Reguladores epigenéticos

Inhibidor HDAC
Inhibidor BET
Inhibidor desmetilasa LSD1

Antiinflamatorios

Agonista glucocorticoide
Agonista receptor retinoide
Análogo sintético de prostaglandina I2
Antagonista del receptor NK1

Reguladores de Neurotransmisores

Antagonista receptores serotonina 5-HT_{1D,2,3}
Inhibidor canales de potasio
Agonista receptor GABAA
Antagonista receptores de adenosina A2A, A3

Muerte Celular

Inhibidor Bcl-2

Lípidos

Agonista receptor SP1

Metabolismo y Bioenergética

Activador AMPK

Antibiótico



Fármacos: Categorías terapéuticas / MOA identificados

Reguladores del fosfoproteoma

Reguladores epigenéticos

Antiinflamatorios

Reguladores de Neurotransmisores

Muerte Celular

Lípidos

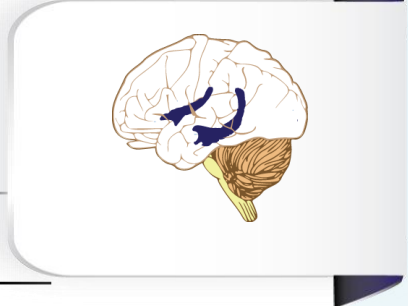
Metabolismo y Bioenergética

Antibiótico

- MOA específicos de **región cerebral**
- MOA que se corresponde con el **mayor número de fármacos identificados**
- MOA con una capacidad de reversión **específica de sexo.**



Fármacos: Categorías terapéuticas / MOA identificados



Sexo	Frec.	Fármaco	Estado	MOA
♀	4	flumetasone	A	Agonista receptor glucocorticoide
	3	adapalene	A	Agonista receptor retinoide
	3	tranilast	A	MÚLTIPLES MOA
♂	4	alitretinoin	A,I	Agonista receptor retinoide

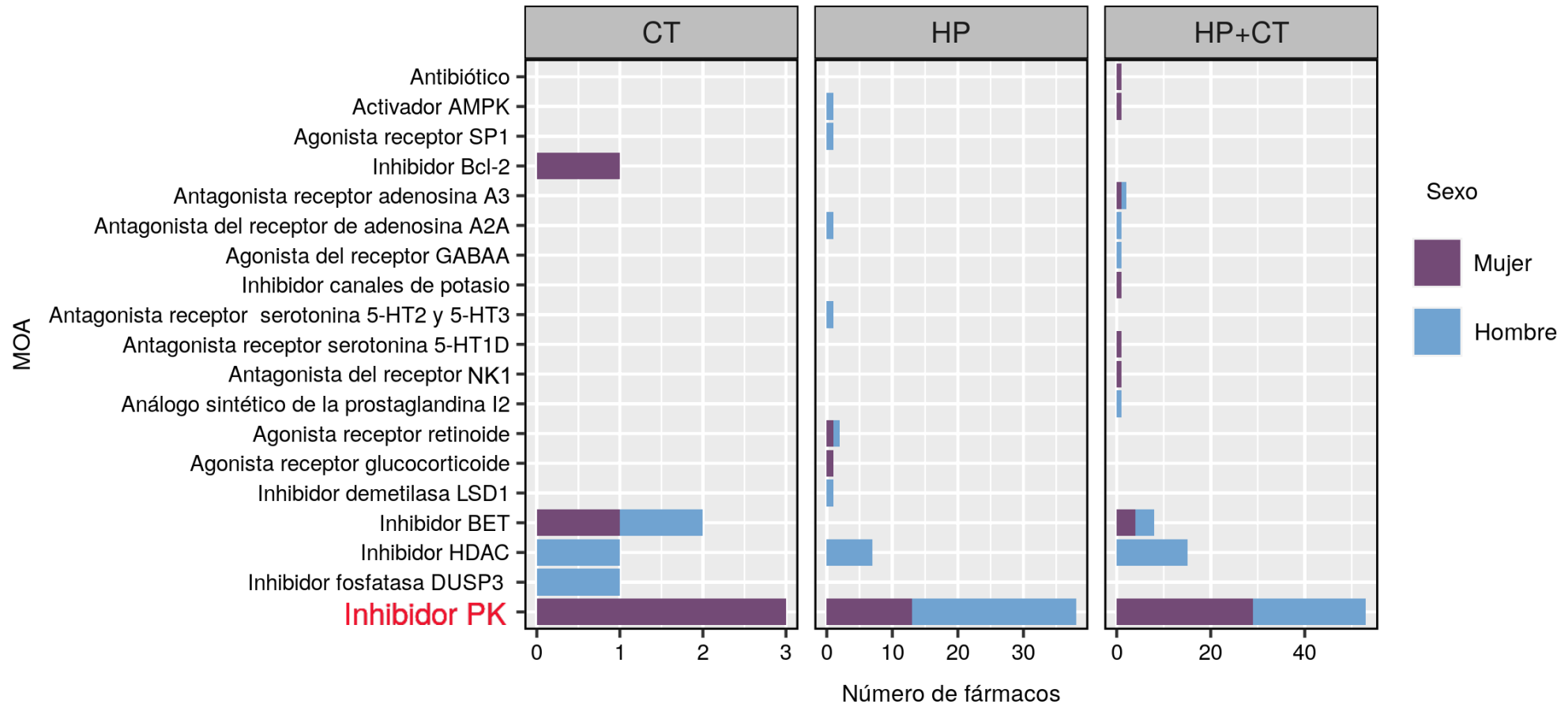
A: aprobado; I: investigación

- Fármacos con propiedades **antiinflamatorias** e **inmumoduladoras**
- Tratamiento de afecciones dermatológicas (reacciones alérgicas, acné vulgar, eccema crónico grave, dermatitis atópica)



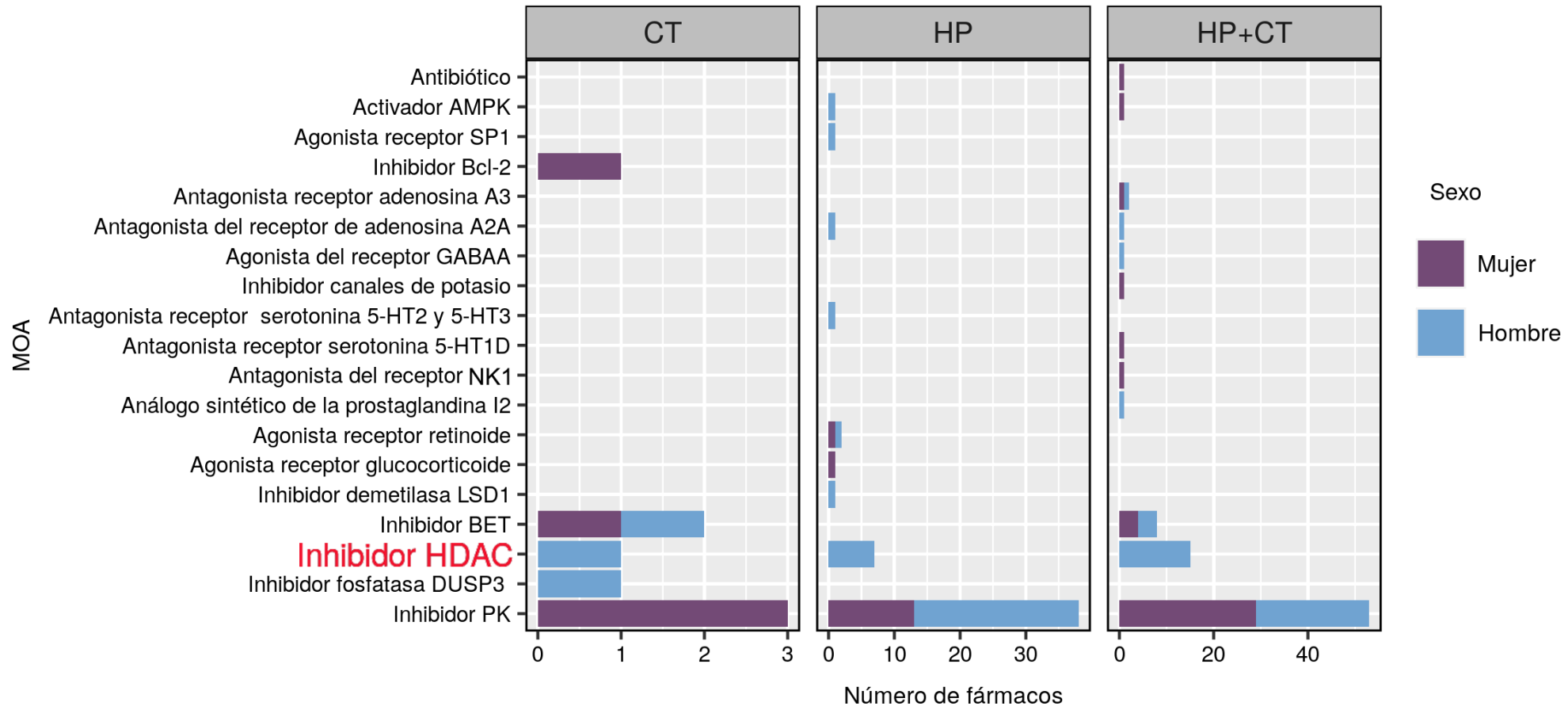
Fármacos: Categorías terapéuticas / MOA identificados

- *MOA que se corresponde con el mayor número de fármacos identificados*



Fármacos: Categorías terapéuticas / MOA identificados

- *MOA con una capacidad de reversión específica de sexo.*



Fármacos: Categorías terapéuticas / MOA identificados

- *MOA con una capacidad de reversión específica de sexo.*



Frec.	Fármaco	Estado	MOA
4	A-769662	E	Activador AMPK
4	AST-1306/allitinib	E	Inhibidor PK
4	AZD-7762	I	Inhibidor PK
4	BAY-61-3606	E	Inhibidor PK
4	BRL-15572	E	Antagonista receptor serotonina 5-HT _{1D}
4	BX-795	E	Inhibidor PK
4	ciclacillin	A	Antibiótico
4	dabrafenib	A	Inhibidor PK
4	dacomitinib	A, I	Inhibidor PK
4	DMP-543	E	Inhibidor canales de potasio
4	GNF-2	E	Inhibidor PK
4	GSK-2334470	E	Inhibidor PK
4	GW-5074	E	Inhibidor PK
4	HMN-214	E	Inhibidor PK
4	I-BET-151	E	Inhibidor BET
4	I-BET-762	I	Inhibidor BET
4	ibrutinib	A	Inhibidor PK
4	JQ-1-R	E	Inhibidor BET



Frec.	Fármaco	Estado	MOA
4	BG-1008	E	Inhibidor HDAC
4	BG-1029	E	Inhibidor HDAC
4	BRD-K68202742/ Trichostatin-A	E	Inhibidor HDAC
4	KIN001-266	E	Inhibidor PK (MAP3K8)
4	KW-2449	E	Inhibidor PK (FLT3)
4	M-344	E	Inhibidor HDAC
4	oxamflatin	E	Inhibidor HDAC
4	SCH-58261	E	Antagonista del receptor de adenosina A2A
3	apicidin	E	Inhibidor HDAC
3	BG-1006	E	Inhibidor HDAC
3	BG-1028	E	Inhibidor HDAC
3	BG-1030	E	Inhibidor HDAC
3	KIN001-260	E	Inhibidor PK (IKK-2)
3	MRS-1220	E	Antagonista receptor adenosina A3
3	PFI-1	E	Inhibidor BET
3	SB-939	I	Inhibidor HDAC
3	scriptaid	E	Inhibidor HDAC



Evidencia Clínica/Preclínica



- Inhibidor PK: **9**
- Inhibidor HDAC: **2**
- Tranilast
- Activador AMPK: **1**



Mirtazapine (FASE III) Antagonista receptor 5HT

Bosutinib (FASE II) Inhibidor PK

Masitinib (FASE III) Inhibidor PK

Neflamapimod (FASE II) Inhibidor PK

NEUROINFLAMACIÓN



- Inhibidor PK: **8**
- Inhibidor HDAC: **3**
- Inhibidor BET: **1**
- Activador AMPK: **1**



Vorinostat (FASE I) Inhibidor HDAC

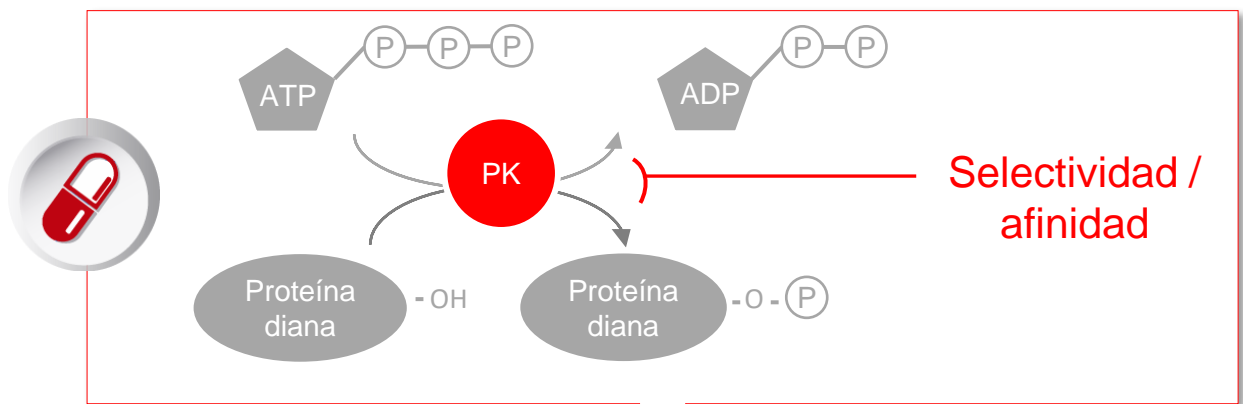
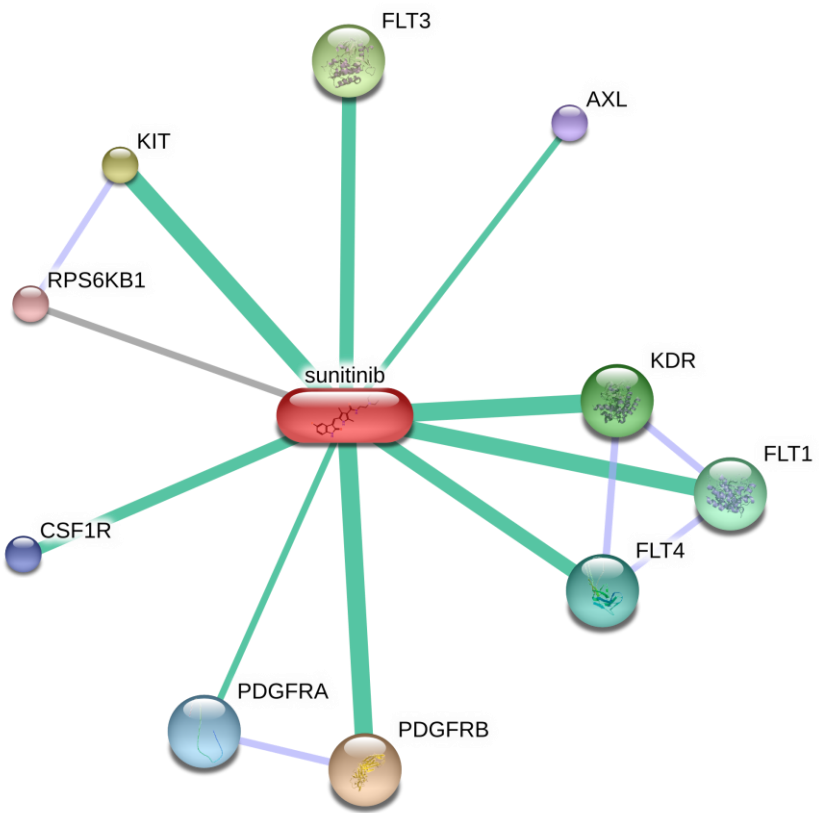
Bosutinib (FASE II) Inhibidor PK


Dasatinib (FASE II) Inhibidor PK


SENOLÍTICO



Inhibidores de Proteínas Quinasas (PK)

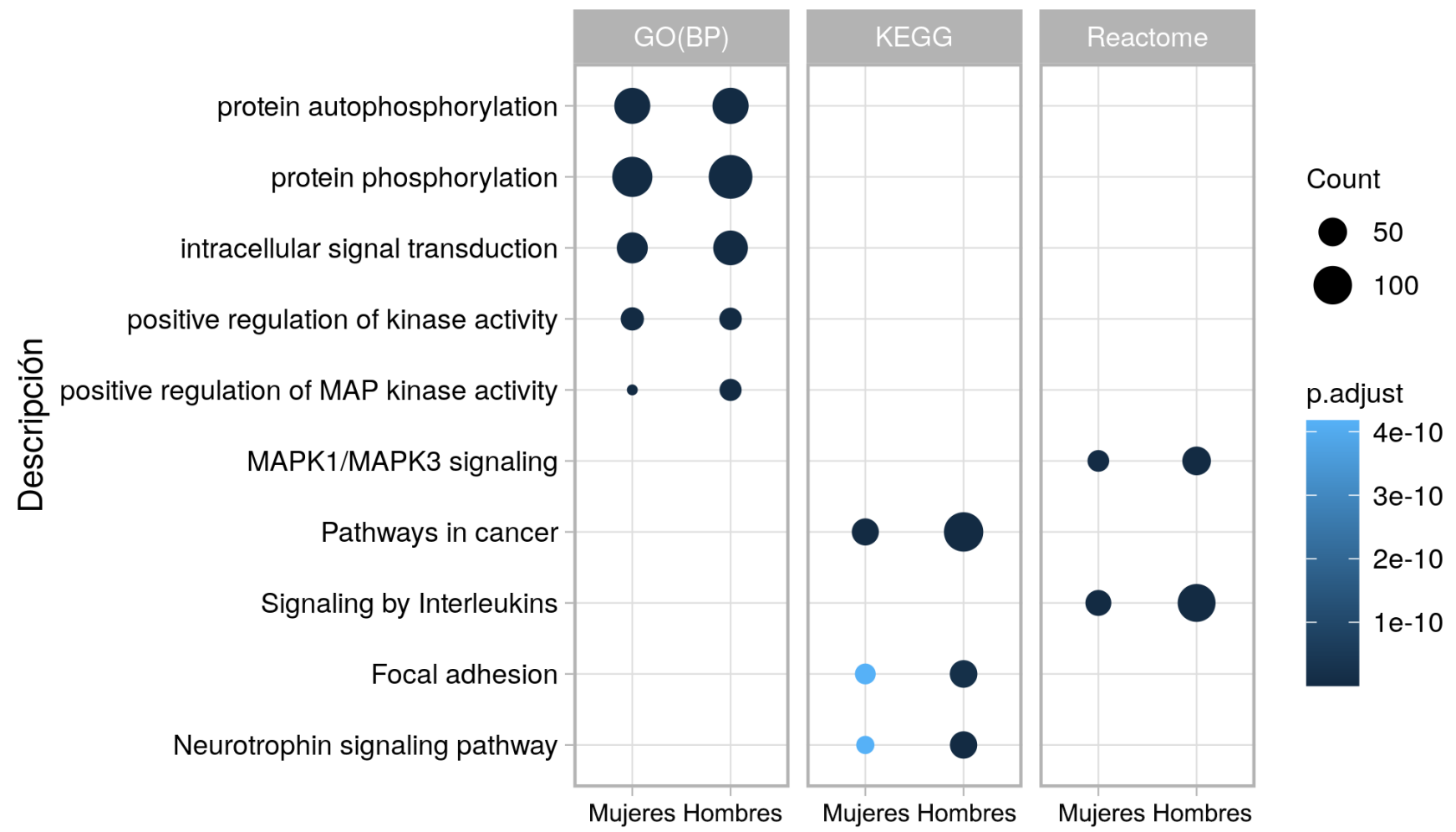


 Desregulación generalizada de fosfoproteínas

 **Inhibition of PLK2 activity** affects APP and tau pathology and improves synaptic **content in a sex-dependent manner** in a 3xTg mouse model of Alzheimer's disease.
Neurobiol Dis. 2022;172:105833.

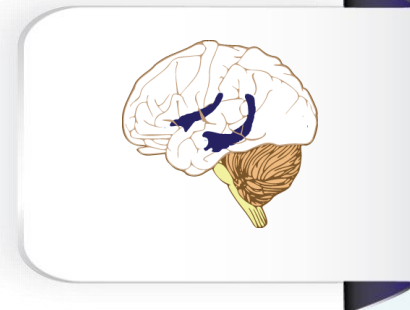


Análisis de Enriquecimiento Funcional-ORA

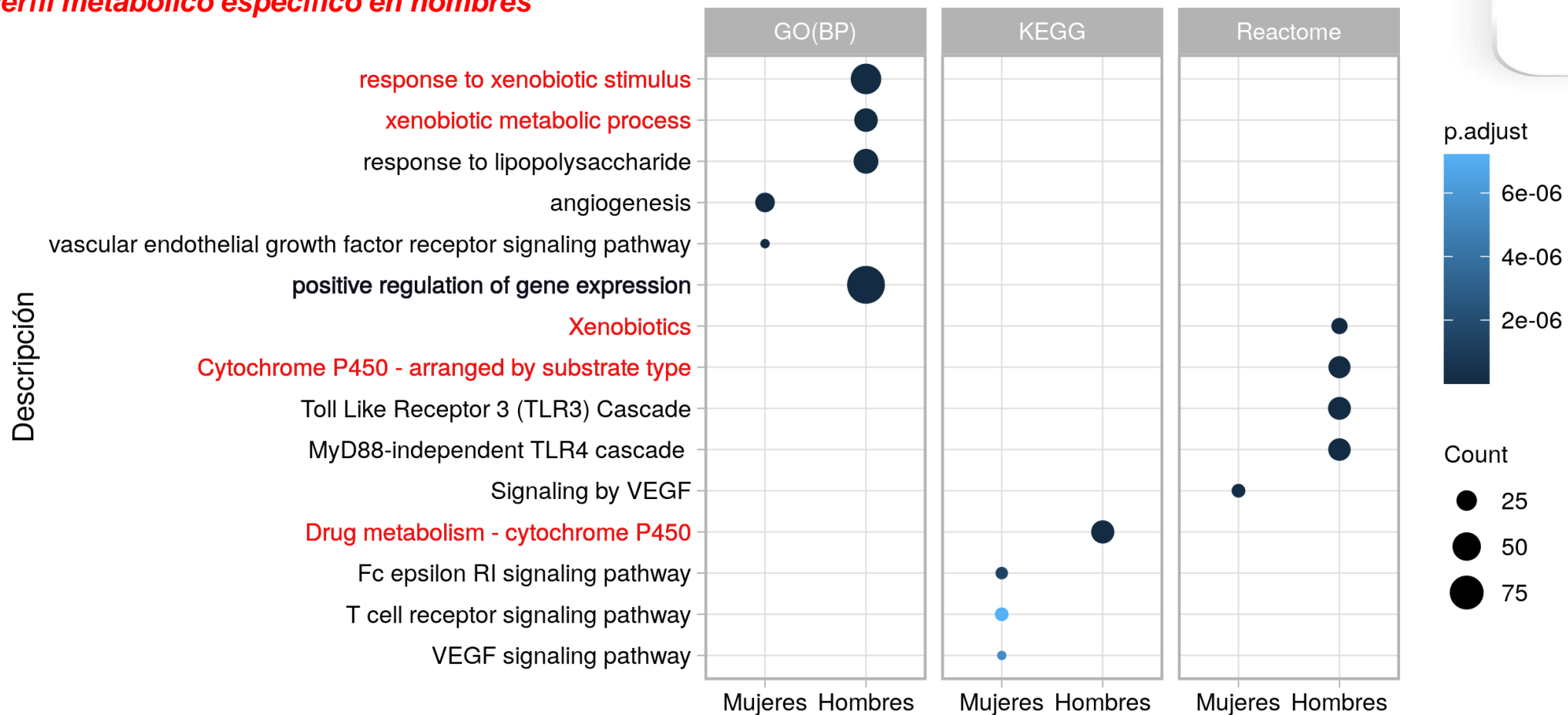




Análisis de Enriquecimiento Funcional-ORA

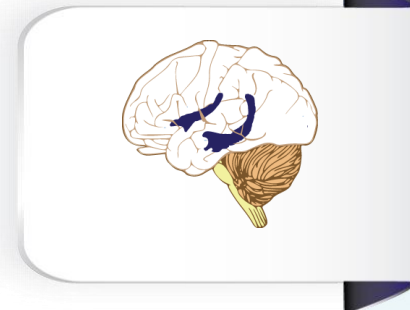


Perfil metabólico específico en hombres

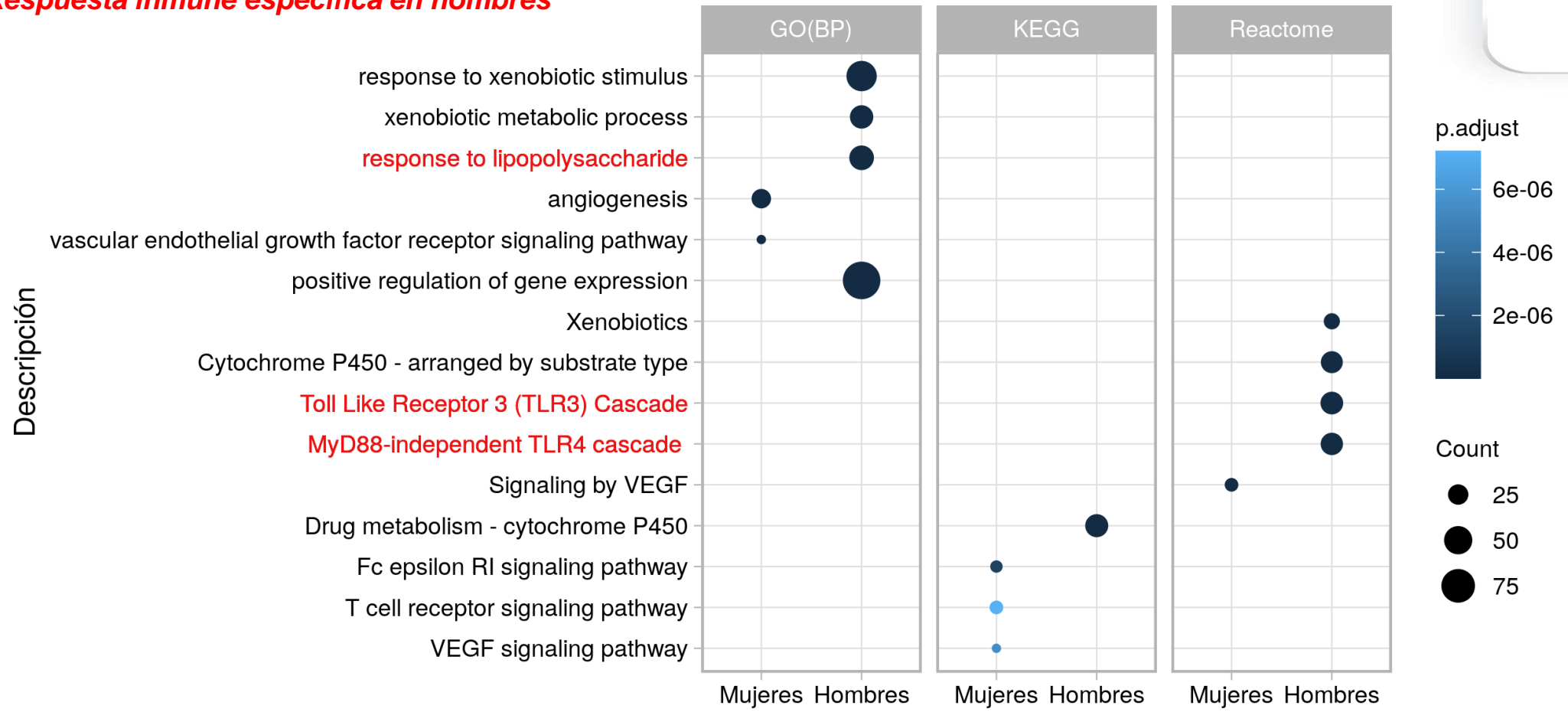




Análisis de Enriquecimiento Funcional-ORA

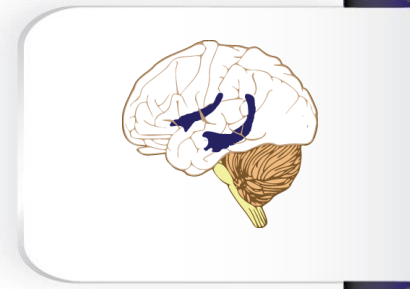


Respuesta inmune específica en hombres

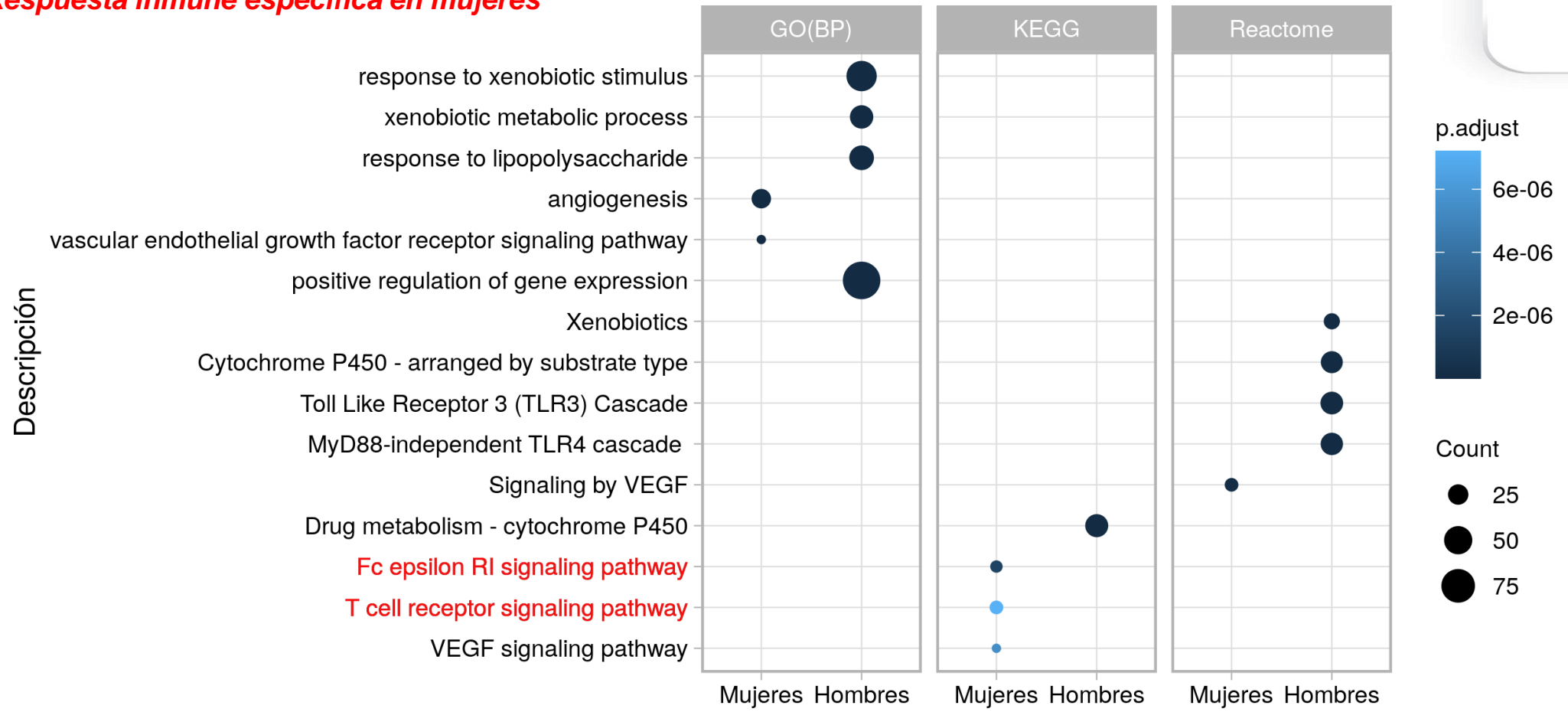




Análisis de Enriquecimiento Funcional-ORA

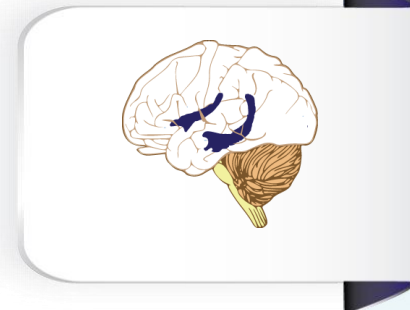


Respuesta inmune específica en mujeres

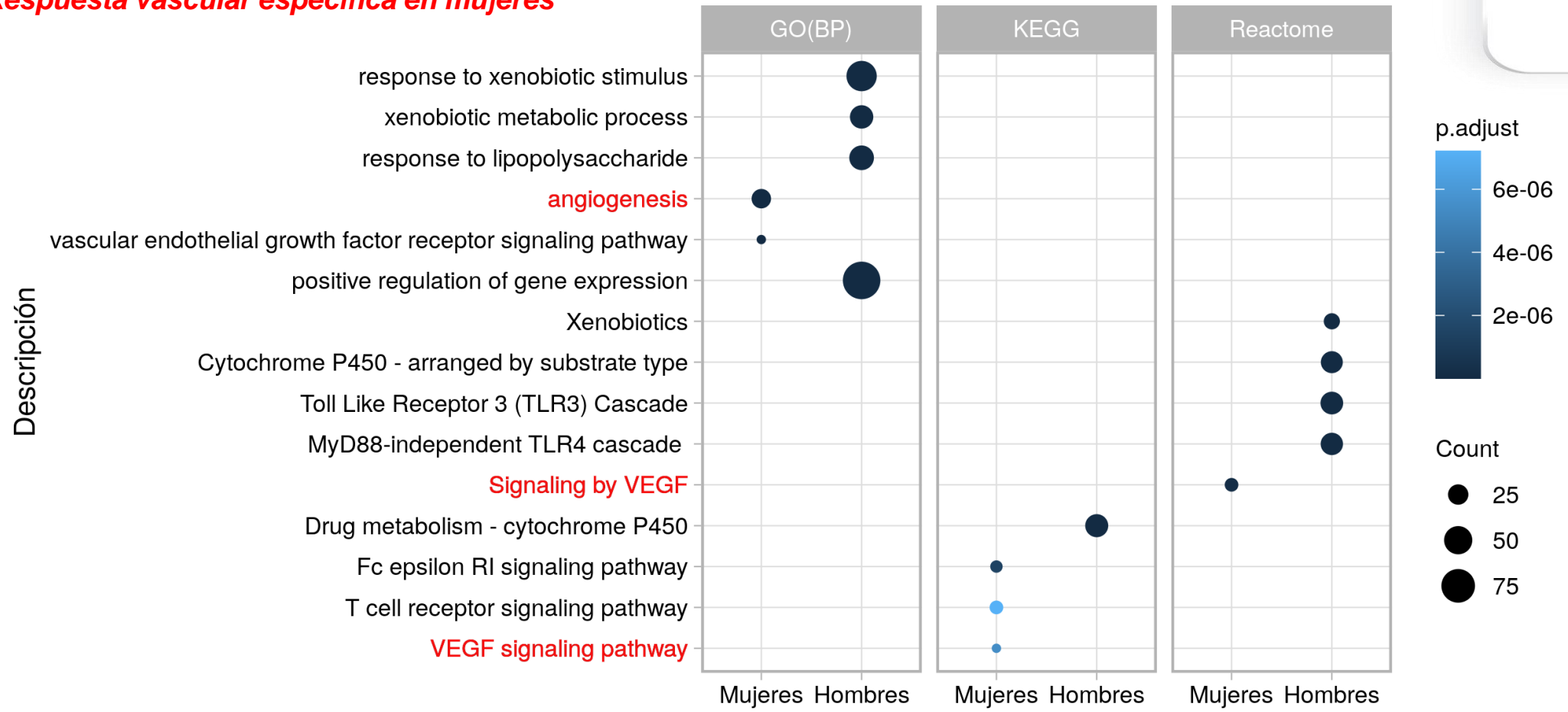




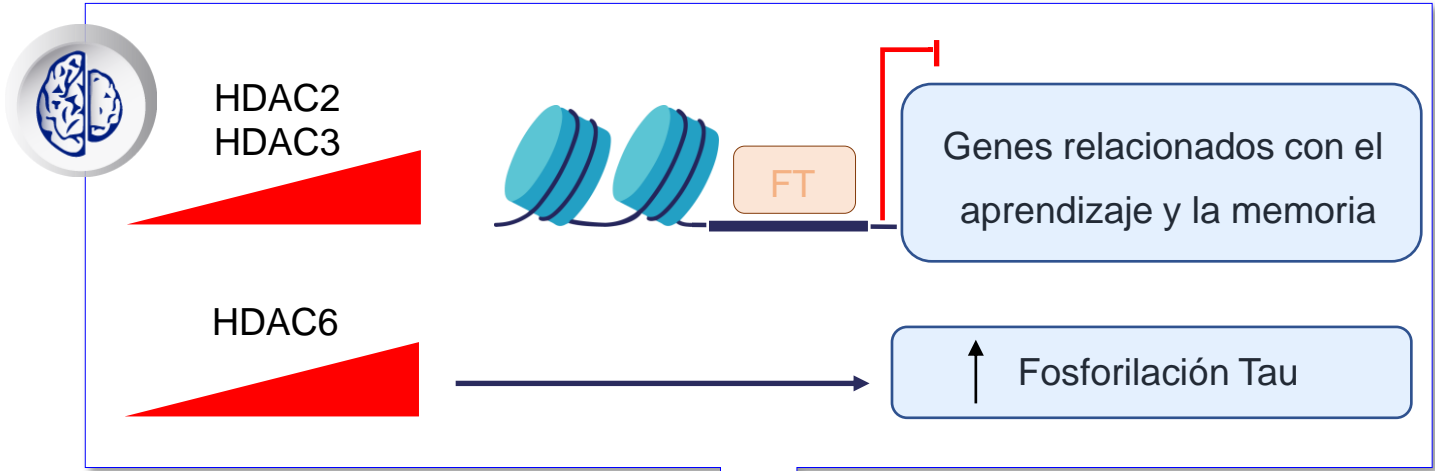
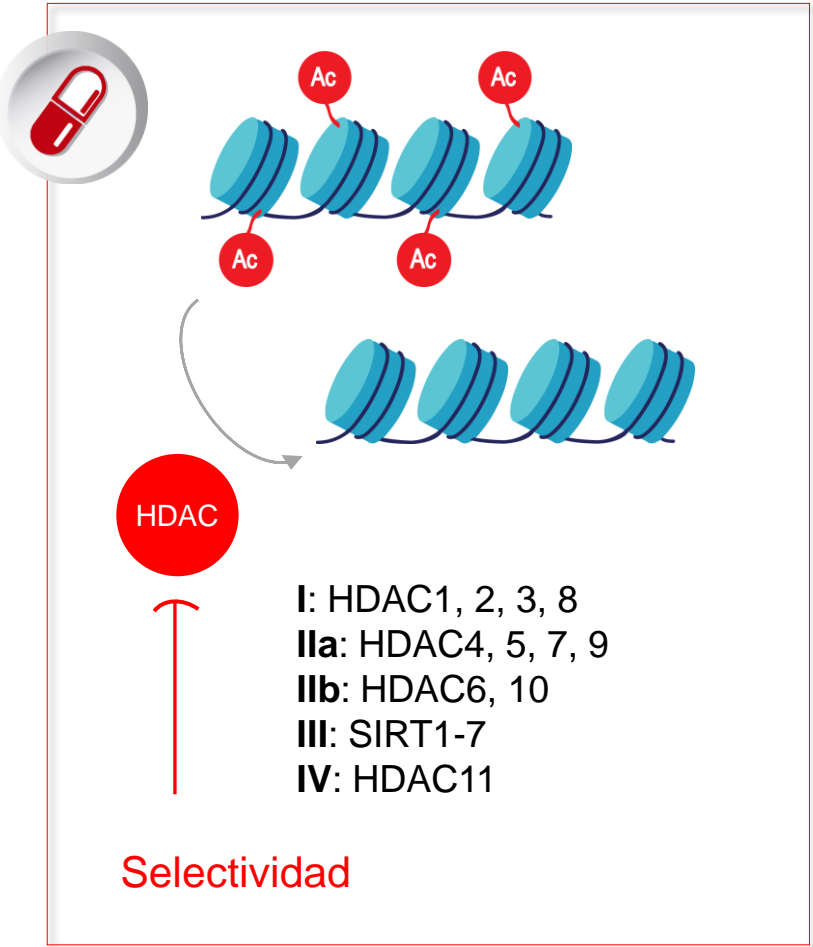
Análisis de Enriquecimiento Funcional-ORA



Respuesta vascular específica en mujeres



Inhibidores de Histonas de Deacetilasas (HDAC)



- **Sex-Dependent Effects of the Histone Deacetylase Inhibitor, Sodium Valproate, on Reversal Learning After Developmental Arsenic Exposure.** *Front Genet.* 2018;9:200.
- Beneficial and **Sexually Dimorphic Response to Combined HDAC Inhibitor Valproate** and AMPK/SIRT1 Pathway Activator Resveratrol in the Treatment of ALS Mice. *Int J Mol Sci.* 2022;23(3):1047.



05. Conclusiones

01.

El RF *in silico* a partir de la similitud del transcriptoma es una **aproximación eficaz para el cribado computacional de miles de fármacos**, que permite identificar nuevas estrategias terapéuticas e inferir nuevas dianas **abordando el dimorfismo sexual de la enfermedad desde el punto de vista terapéutico**.

02.

De entre las cuatro métricas de similitud aplicadas, **CMap2 es la métrica que proporciona una lista de priorización de fármacos de mayor verosimilitud** de acuerdo a los puntajes de conectividad.

03.

El análisis de reversión por región cerebral permite identificar **fármacos con MOA más precisos al fenotipo de la región considerada**.

04.

El **análisis del enriquecimiento funcional** de los genes diana de los fármacos identificados, **posibilita también la inferencia indirecta de los mecanismos patogénicos diferenciales por sexo**.

05.

Entre los MOA identificados **prevalen los fármacos con propiedades antiinflamatorias e inmunomoduladoras**, de acuerdo a uno de los principales mecanismos de la patogenia de la EA como es la **neuroinflamación**.

06.

Los **inhibidores de HDAC** presentan un **evidente dimorfismo sexual en la capacidad de reversión del transcriptoma**, que podría traducirse en una respuesta terapéutica dependiente del sexo como lo demuestran algunos estudios.

07.

Estos resultados proponen nuevas líneas de investigación en torno a la **desregulación dependiente del sexo de dianas terapéuticas específicas**.



**¡Muchas Gracias per
la vuestra atención!**