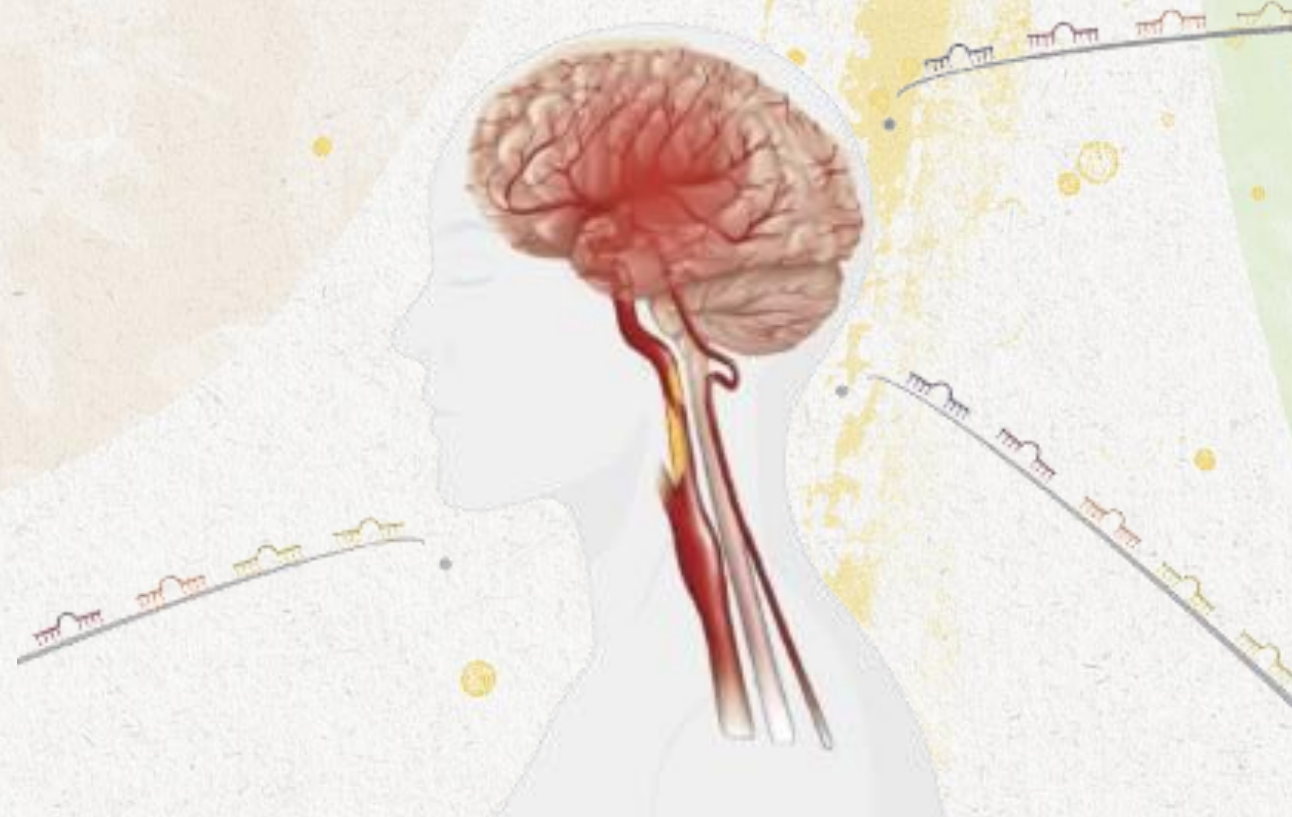


miRNAs circulantes como biomarcadores diagnósticos de estenosis carotídea asintomática significativa

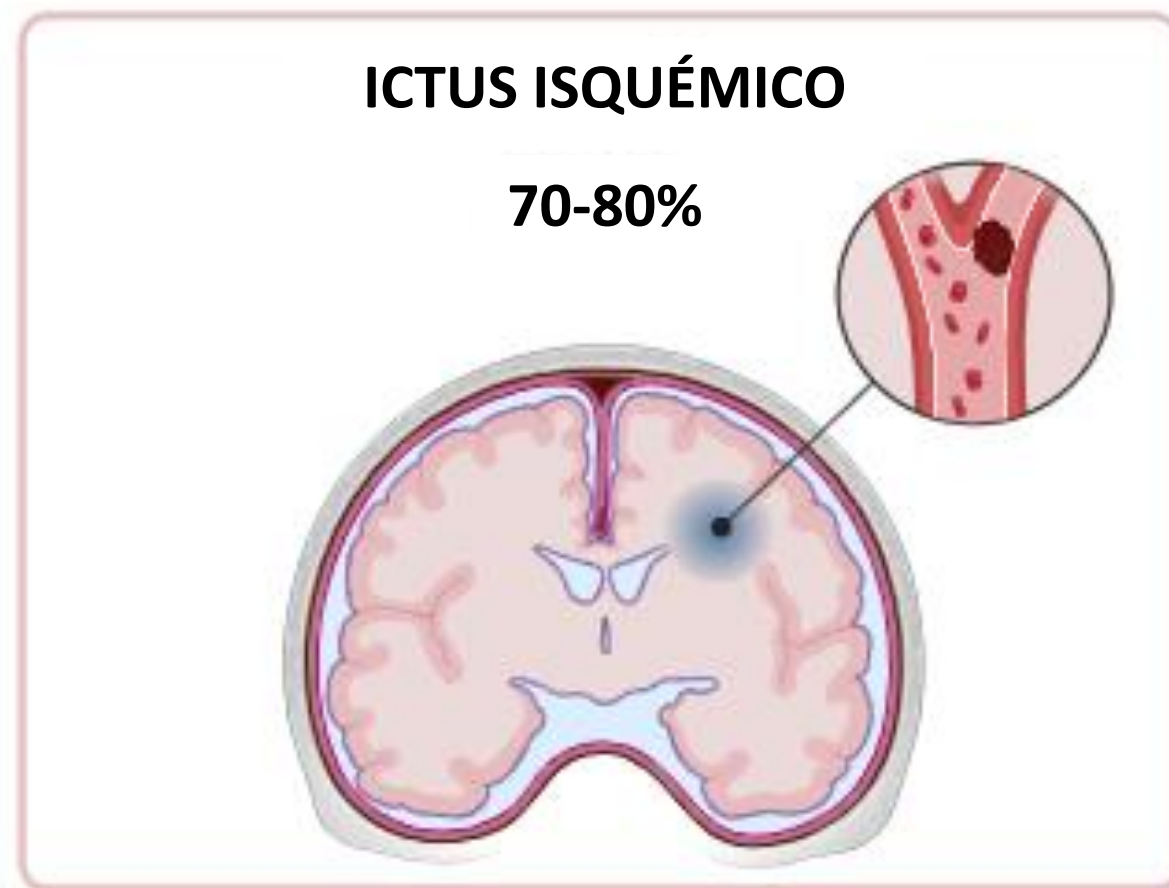


Laia Carballo Perich

Institut d'Investigació Biomèdica de Girona (IDIBGI) – Hospital Universitari Dr. Josep Trueta, Girona

INTRODUCCIÓN

ICTUS ISQUÉMICO

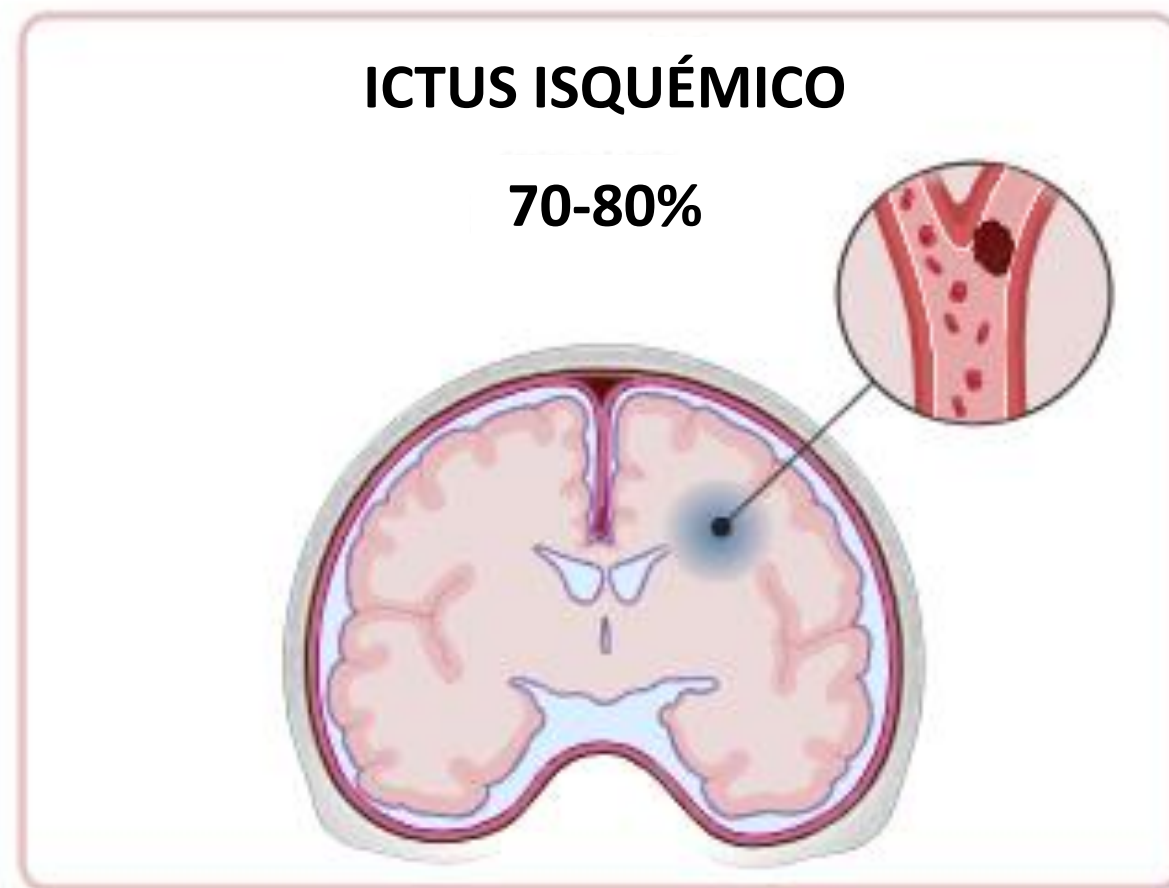


Classificación del ictus isquémico según el sistema SSS-TOAST:

1. Aterosclerosis de gran vaso
2. Cardioembólico
3. Oclusión de pequeñas arterias (lacunar)
4. Etiología inusual
5. Etiología indeterminada (criptogénico)

INTRODUCCIÓN

ICTUS ISQUÉMICO



Clasificación del ictus isquémico según el sistema SSS-TOAST:

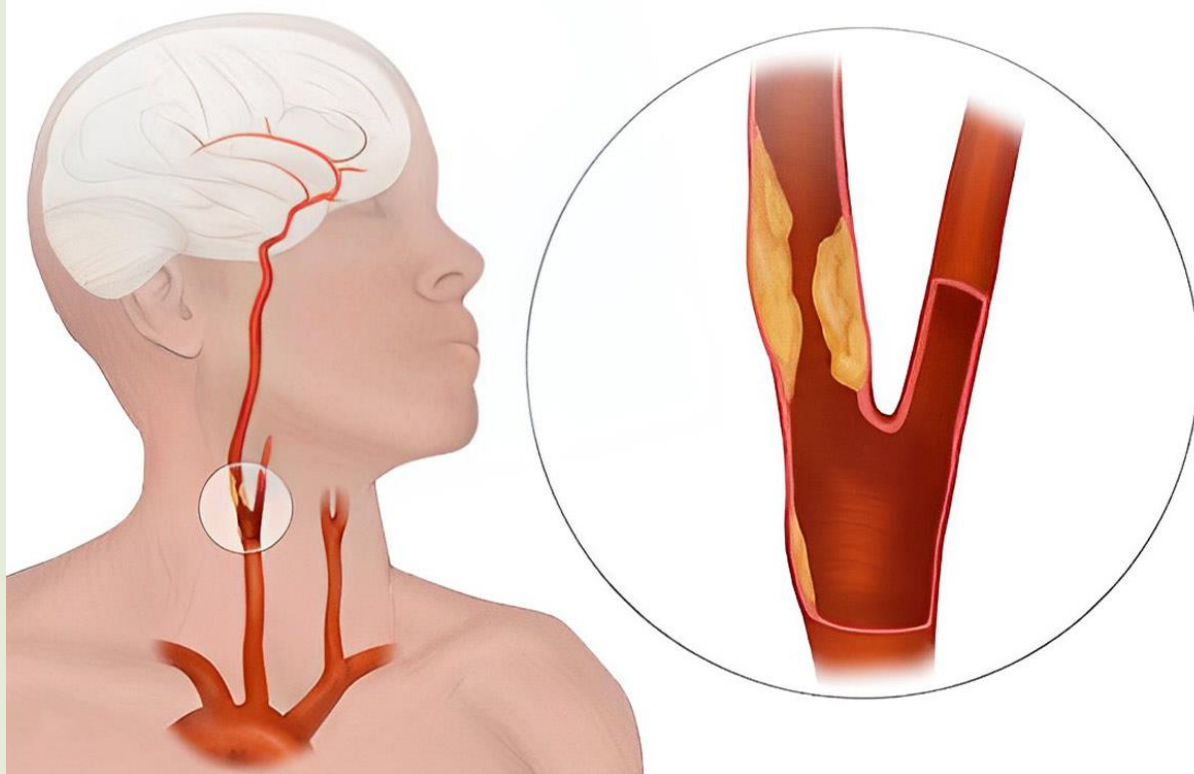
1. Aterosclerosis de gran vaso
2. Cardioembólico
3. Oclusión de pequeñas arterias (lacunar)
4. Etiología inusual
5. Etiología indeterminada (criptogénico)

INTRODUCCIÓN

ESTENOSIS CAROTÍDEA (EC)

20% de los ictus

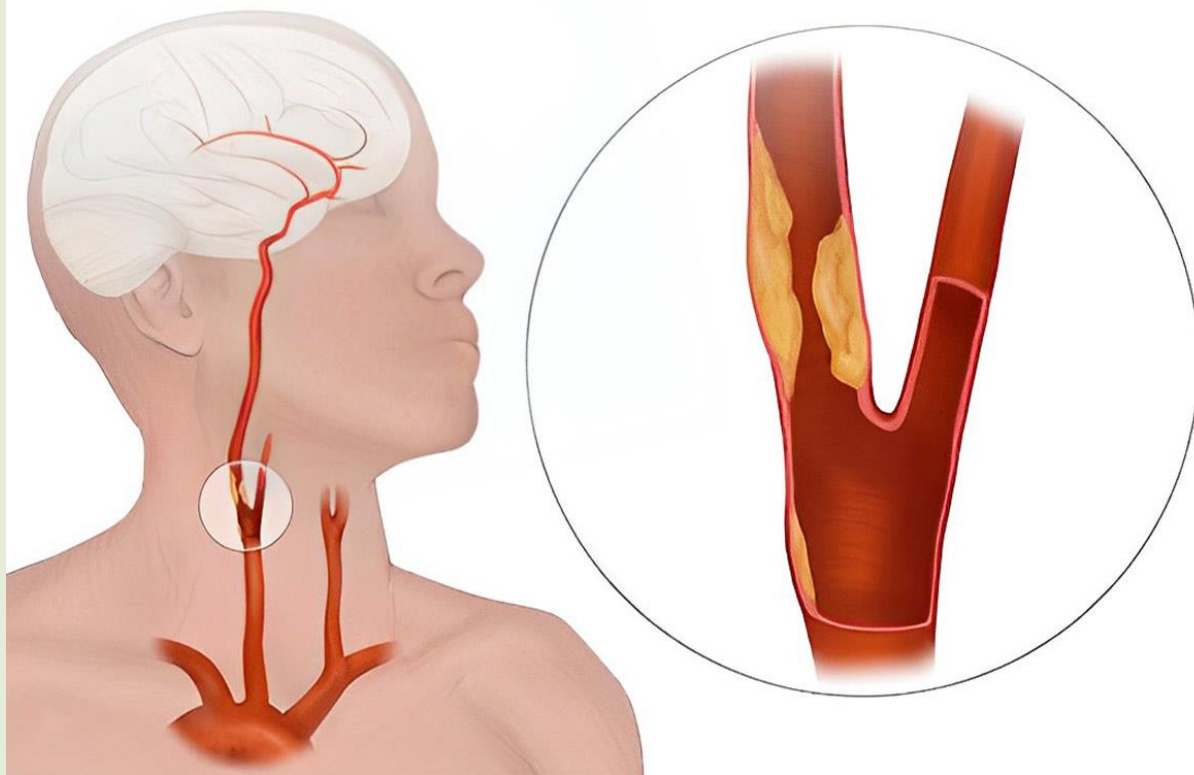
isquémicos aterotrombóticos



INTRODUCCIÓN

ESTENOSIS CAROTÍDEA (EC)

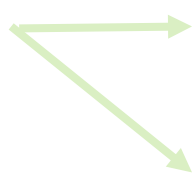
20% de los ictus
isquémicos aterotrombóticos



Estenosis carotídea sintomática (ECS)

- Isquemia neurológica aguda (ictus o AIT)

Estenosis carotídea asintomática (ECA)

- Se descubre incidentalmente sin haber causado isquemia neurológica
- Se distingue 
 - Asintomática **estable** o de bajo riesgo (ECAE)
 - Asintomática **progresiva** o de alto riesgo (ECAP)

INTRODUCCIÓN

DIAGNÓSTICO DE LA ESTENOSIS CAROTÍDEA

Ecografía (Doppler)



Angiografía por tomografía computada



Angiografía por resonancia magnética



Angiografía por substracción digital



INTRODUCCIÓN

DIAGNÓSTICO DE LA ESTENOSIS CAROTÍDEA



Disponibilidad limitada y personal especializado

Ecografía (Doppler)



Angiografía por tomografía computada



Angiografía por resonancia magnética



Angiografía por substracción digital



INTRODUCCIÓN

DIAGNÓSTICO DE LA ESTENOSIS CAROTÍDEA



Disponibilidad limitada y personal especializado

Ecografía (Doppler)



Angiografía por tomografía computada



Angiografía por resonancia magnética



Angiografía por substracción digital



No existe un cribado poblacional sistemático

INTRODUCCIÓN

DIAGNÓSTICO DE LA ESTENOSIS CAROTÍDEA

 Disponibilidad limitada y personal especializado

Ecografía (Doppler)



Angiografía por tomografía computada



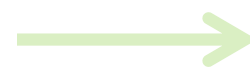
Angiografía por resonancia magnética



Angiografía por substracción digital



No existe un cribado poblacional sistemático



Identificación de biomarcadores

INTRODUCCIÓN

BIOMARCADORES

Un **biomarcador** es una **característica biológica** que se puede medir de manera objetiva y que se utiliza como indicador de un proceso fisiológico, de una condición patológica o de la respuesta a un tratamiento terapéutico.

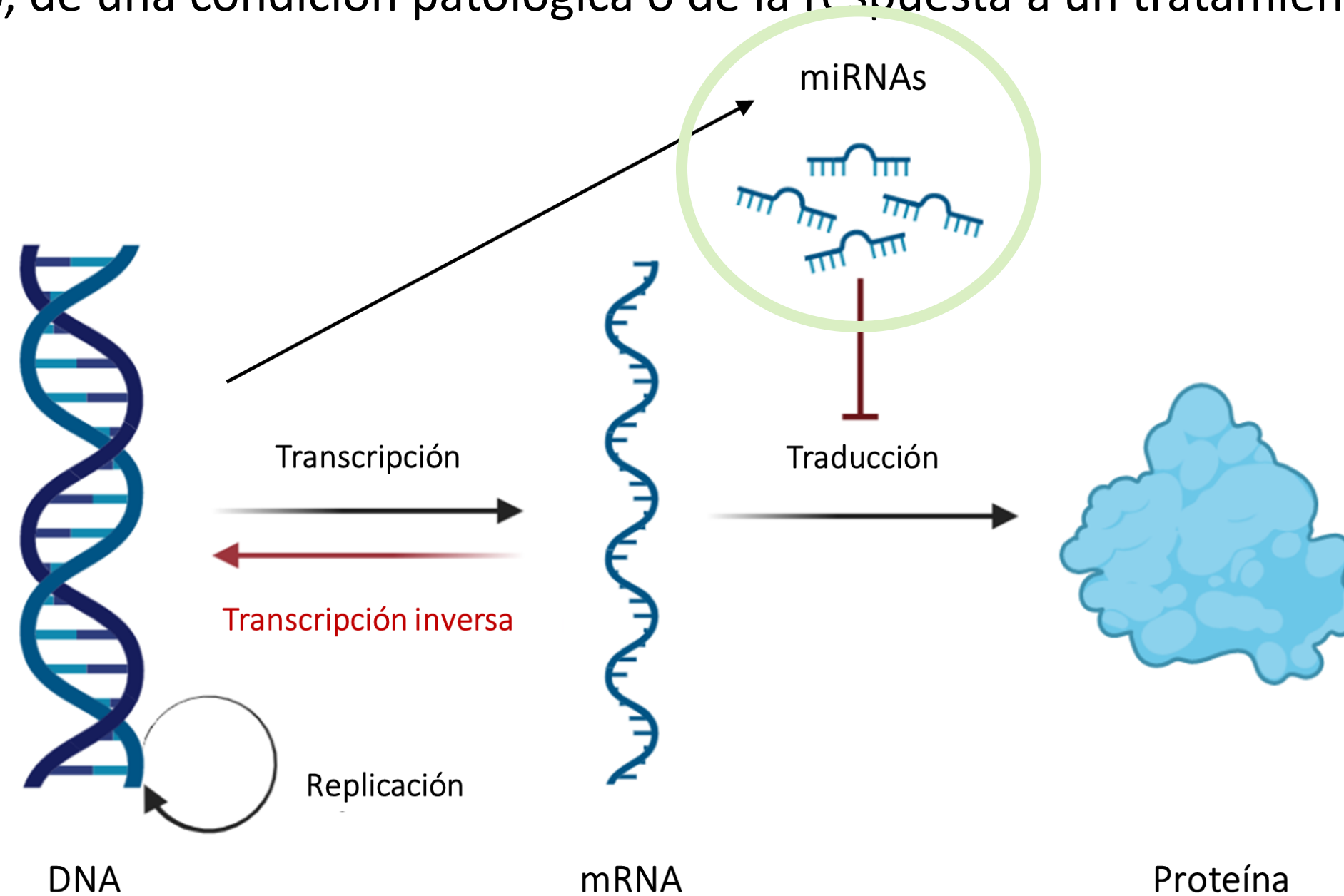
- ✓ Especificidad
- ✓ Sensibilidad
- ✓ Estabilidad
- ✓ No invasivos

INTRODUCCIÓN

BIOMARCADORES

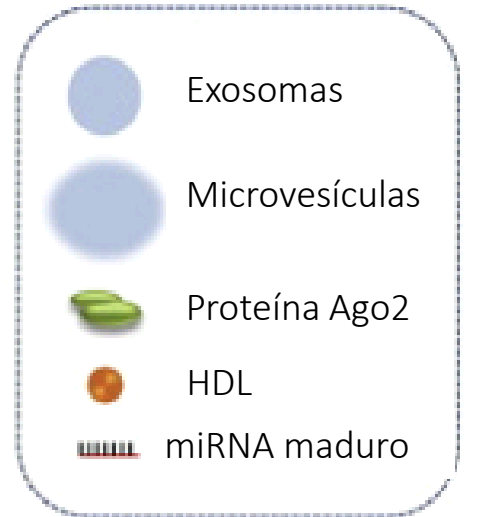
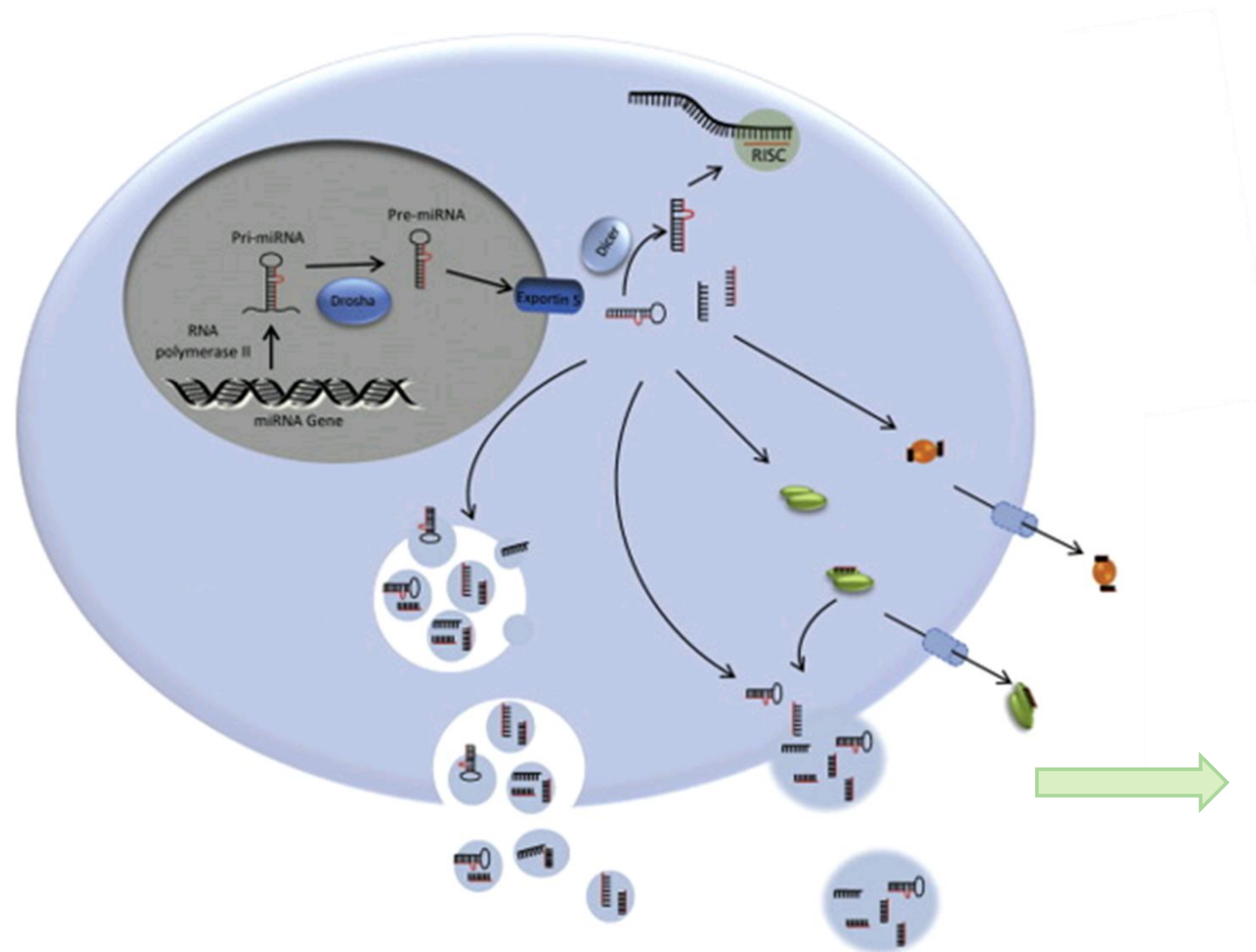
Un **biomarcador** es una **característica biológica** que se puede medir de manera objetiva y que se utiliza como indicador de un proceso fisiológico, de una condición patológica o de la respuesta a un tratamiento terapéutico.

- ✓ Especificidad
- ✓ Sensibilidad
- ✓ Estabilidad
- ✓ No invasivos



INTRODUCCIÓN

miRNAs



miRNAs circulantes

- ✓ No invasivos
- ✓ Específicos
- ✓ Sensibles
- ✓ Estables
- ✓ Cuantificables
- ✓ Diagnóstico precoz

INTRODUCCIÓN

miRNAs DIAGNÓSTICO EN ECA

ECA vs CTRLS

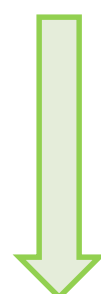


miRNA	Expresión ECA	Muestra	Grupos de pacientes	Normalizadores	Referencia
miR-19a-3p	Sobrerregulado	Suero	ECA vs CTRLS	RNU6	X. Liu et al. 2021
miR-27b	Sobrerregulado	Suero	ECA vs CTRLS	RNU6	Lu et al. 2021
miR-92a	Sobrerregulado	Suero	ECA vs CTRLS	RNU6	Chen et al. 2020
miR-106b-5p	Sobrerregulado	Suero	ECA vs CTRLS	RNU6	Zhang et al. 2020
miR-146a	Sobrerregulado	Suero	ECA vs CTRLS	RNU6	Huang, He, i Xu 2020
miR-186-5p	Sobrerregulado	Suero	ECA vs CTRLS+ECA<20%	RNU6	Lv et al. 2020
miR-342-5p	Sobrerregulado	Suero	ECA vs CTRLS	RNU6	Zhou et al. 2022
miR-375-3p	Sobrerregulado	Suero	ECA vs CTRLS+ECA<20%	RNU6 i GAPDH	Yin et al. 2021
miR-483-5p	Sobrerregulado	Suero	ECA vs CTRLS	RNU6	Li, Jiang, i Wang 2021
miR-9-5p	Infraregulado	Suero	ECA vs CTRLS+ECA<20%	RNU6	H. Liu et al. 2021
miR-199a-3p	Infraregulado	Suero	ECA vs CTRLS	RNU6	Sun et al. 2021
miR-28-5p	Infraregulado	Suero	ECA vs CTRLS+ECA<20%	RNU6 i GAPDH	Q. Liu et al. 2022
miR-455-5p	Infraregulado	Suero	ECA vs CTRLS+ECA<20%	RNU6	Zhu et al. 2022a
miR-486-5p	Infraregulado	Suero	ECA vs CTRLS	RNU6	Zhu et al. 2022b
miR-503-5p	Infraregulado	Suero	ECA vs CTRLS	RNU6	Yan et al. 2020
miR-532-5p	Infraregulado	Suero	ECA vs CTRLS+ECA<20%	RNU6	Du et al. 2020

9



7



INTRODUCCIÓN

miRNAs SUERO o PLASMA?

Suero

vs

Plasma



Coagulación

Anticoagulantes

Liberación de ácidos nucleicos

Menor contaminación por ácidos nucleicos

OBJETIVO

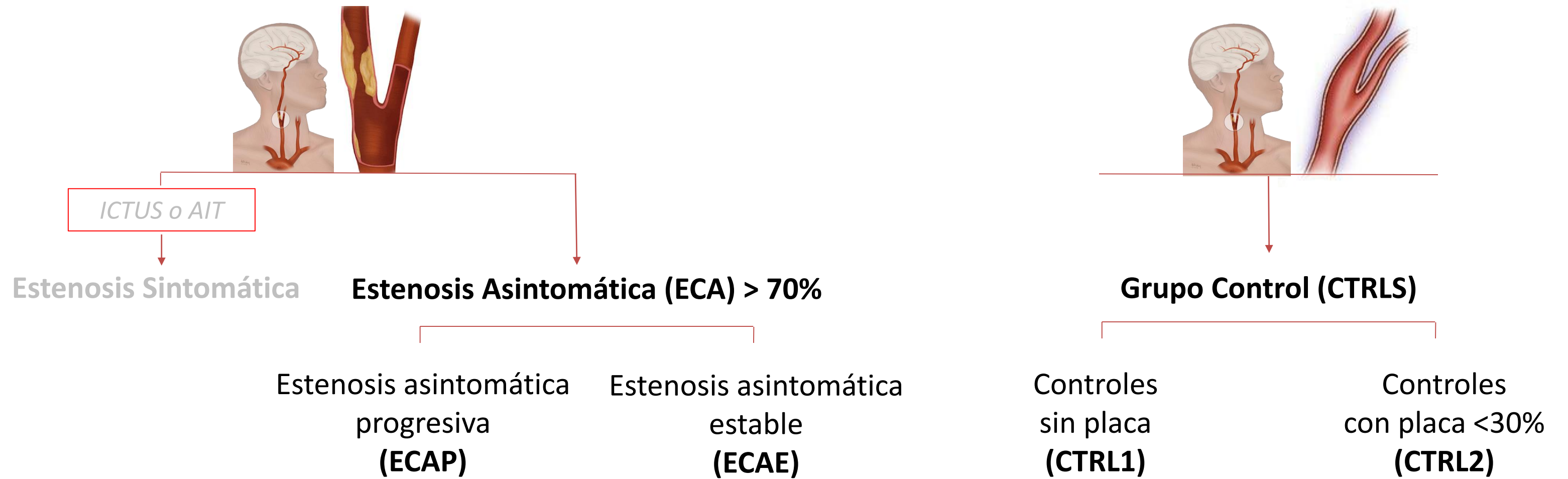
1. Determinar **miRNAs en plasma** como **biomarcadores diagnósticos de la ECA severa**

1.1. Identificar y validar **miRNAs cualitativos** como posibles **biomarcadores diagnósticos** mediante el análisis de muestras de plasma de pacientes con ECA en comparación con controles sin ECA (individuos sin placa y sin estenosis relevante).

1.2. Identificar y validar **miRNAs cuantitativos** como posibles **biomarcadores diagnósticos** mediante el análisis de muestras de plasma de pacientes con ECA en comparación con controles sin ECA (individuos sin placa y sin estenosis relevante).

MATERIALES Y MÉTODOS

1. POBLACIÓN DE ESTUDIO



ECA

CTRLS

COHORTE DE CRIBADO

19

11

COHORTE DE VALIDACIÓN

69

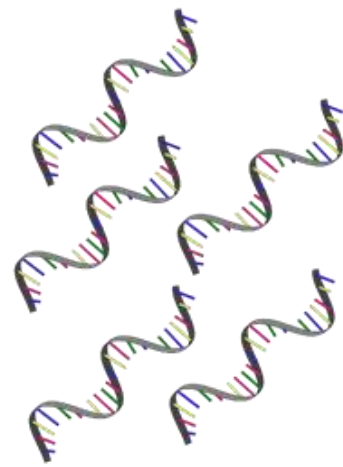
70



MATERIALES Y MÉTODOS

2. CUANTIFICACIÓN miRNAs

COHORTE DE CRIBADO

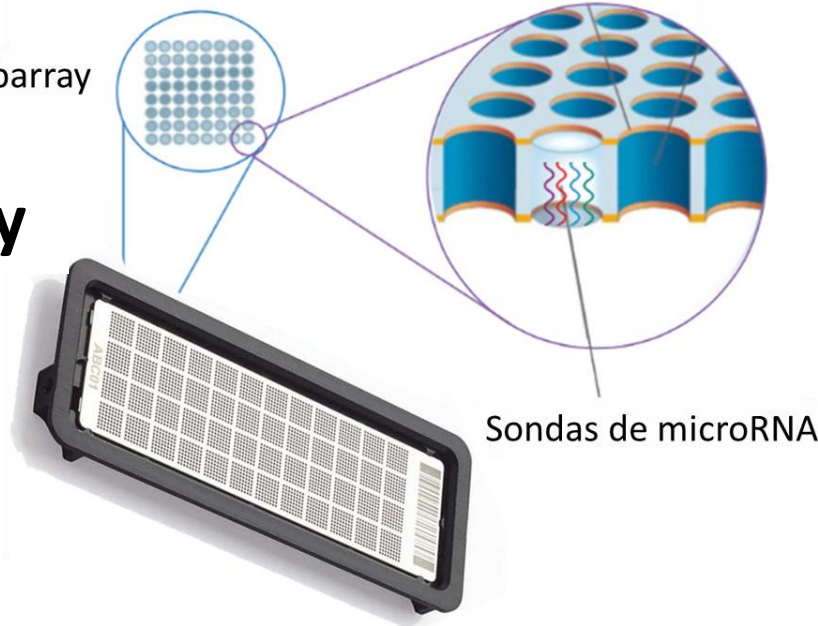


microRNAs



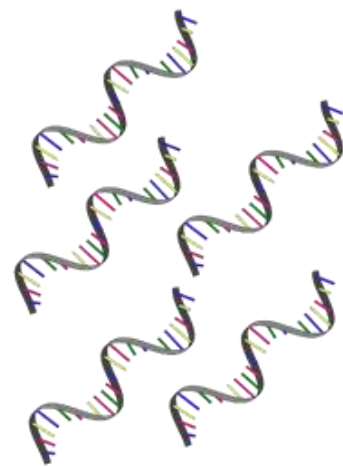
Open Array

Subarray



Sondas de microRNA

COHORTE DE VALIDACIÓN



microRNAs



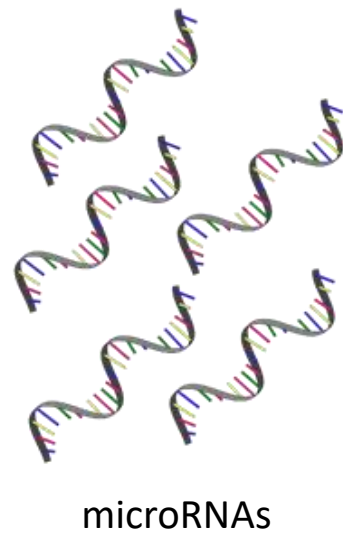
qPCR



MATERIALES Y MÉTODOS

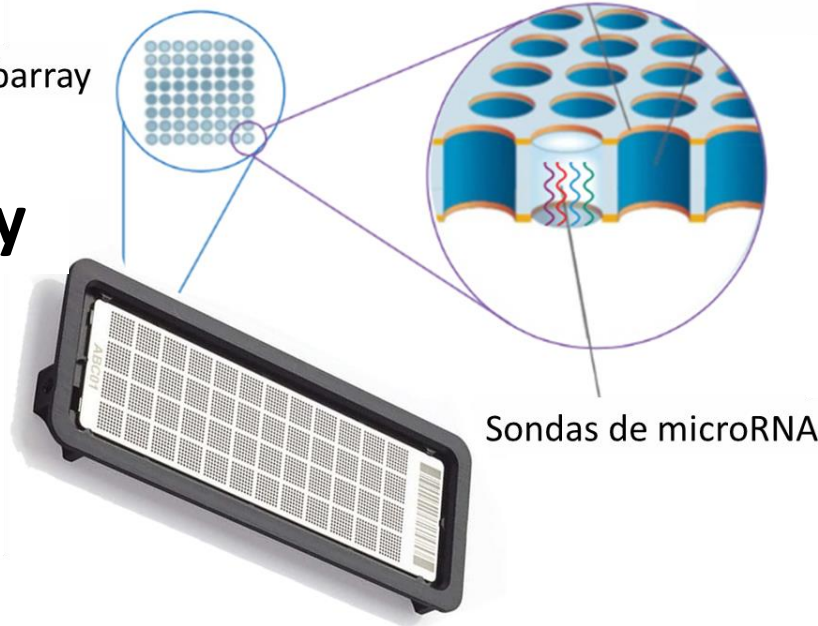
2. CUANTIFICACIÓN miRNAs

COHORTE DE CRIBADO

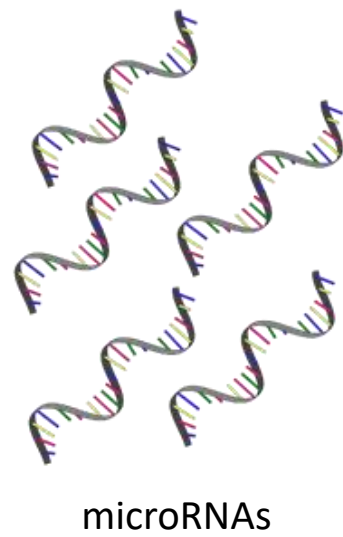


Open Array

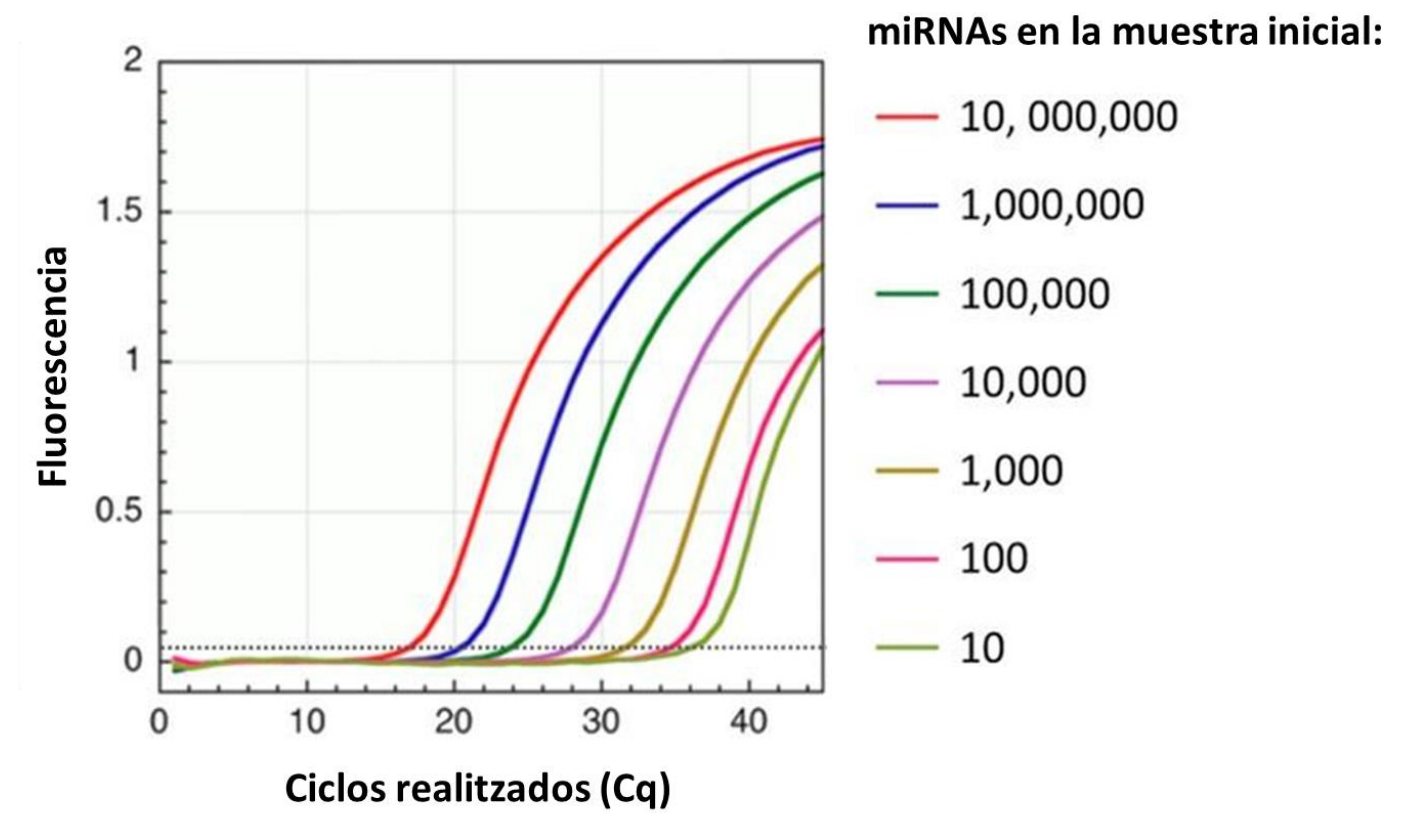
Subarray



COHORTE DE VALIDACIÓN



qPCR



MATERIALES Y MÉTODOS

3. ANÁLISIS DE DATOS

1. Calidad de las amplificaciones

A) Open Array

- Fiabilidad Cq >0.8
- Valor AMP >1.24
- Umbral Cq <28

B) TLDA

- Fiabilidad Cq >0.8
- Valor AMP >1
- Umbral Cq <32

Assays

- Fiabilidad Cq >0.5
- Valor AMP >1
- Umbral Cq <35

2. Calidad de las muestras

A) Muestras con >100 miRNAs detectados

B) No aplica

3. Calidad de los biogrupos

A) + B) miRNAs expresados >70% en los biogrupos, o >70% en ECA y <20% en CTRLS

4. Corrección técnica

A) + B) Cq corregido = Valor Cq – (Promedio Cq de los exógenos – Mediana Cq total exógenos)

5. Normalización global ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)

A)

- ECA vs CTRLS: p-valor < 0.05 y FC > 2 o < -2

B) No aplica

A) CRIBADO B) VALIDACIÓN

6. Selección de miRNAs endógenos

A) De todos los candidatos

- Sin diferencias significativas en la normalización global
- Expresados 100% de las muestras
- Cumplir criterio estabilidad $2^{-\Delta Ct}$
- Cálculo SSS:

B) De los seleccionados

$$SSS = \sqrt{(\text{valor NormFinder})^2 + (\text{valor geNorm})^2 + (\text{valor CV})^2}$$

- Menor valor SSS, más estabilidad
- geNorm determina número óptimo de endógenos

7. Normalización por endógenos ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)

A + B)

- ECA vs CTRLS: p-valor < 0.05 y FC > 2 o < -2

MATERIALES Y MÉTODOS

3. ANÁLISIS DE DATOS

1. Calidad de las amplificaciones

A) Open Array

- Fiabilidad Cq >0.8
- Valor AMP >1.24
- Umbral Cq <28

B) TLDA

- Fiabilidad Cq >0.8
- Valor AMP >1
- Umbral Cq <32

Assays

- Fiabilidad Cq >0.5
- Valor AMP >1
- Umbral Cq <35

2. Calidad de las muestras

A) Muestras con >100 miRNAs detectados

B) No aplica

3. Calidad de los biogrupos

A) + B) miRNAs expresados >70% en los biogrupos, o >70% en ECA y <20% en CTRLS

4. Corrección técnica

A) + B) Cq corregido = Valor Cq – (Promedio Cq de los exógenos – Mediana Cq total exógenos)

5. Normalización global ($2^{-\Delta\Delta C_t}$)

A)

- ECA vs CTRLS: p-valor < 0.05 y FC > 2 o < -2

B) No aplica

A) CRIBADO B) VALIDACIÓN

6. Selección de miRNAs endógenos

A) De todos los candidatos

- Sin diferencias significativas en la normalización global
- Expresados 100% de las muestras
- Cumplir criterio **estabilidad** $2^{-\Delta C_t}$
- Cálculo SSS:

B) De los seleccionados

$$SSS = \sqrt{(\text{valor NormFinder})^2 + (\text{valor geNorm})^2 + (\text{valor CV})^2}$$

- Menor valor SSS, más estabilidad
- geNorm determina **número óptimo** de endógenos

7. Normalización por endógenos ($2^{-\Delta\Delta C_t}$)

A + B)

- ECA vs CTRLS: p-valor < 0.05 y FC > 2 o < -2

RESULTADOS

COHORTE DE CRIBADO Y VALIDACIÓN

	COHORTE DE CRIBADO					COHORTE DE VALIDACIÓN				
	ECA		CTRLS		p-valor	ECA		CTRLS		p-valor
	n		n			n		n		
Edad (años)	19	64,68 ± 6,263	11	67,99 ± 5,343	0,154	69	67,87 ± 7,906	70	69,75 ± 7,177	0,143
Sexo mujer (n,%)	19	4 (21,1)	11	2 (18,2)	1,000	69	13 (18,8)	70	20 (28,6)	0,232
Hábito tabáquico (n, %)	19		11		0,641	69		70		0,702
No fumador + ex-fumador		16 (84,2)		8 (72,7)			52 (75,4)		50 (71,4)	
Fumador activo		3 (15,8)		3 (27,3)			17 (24,6)		20 (28,6)	
Consumo de alcohol (n, %)	19		-		-	69		-		-
No		14 (73,7)		N/A			47 (68,1)		N/A	
Si		3 (15,8)		N/A			9 (13,0)		N/A	
Ex-enol		2 (10,5)		N/A			13 (18,8)		N/A	
Diabetes Mellitus (n, %)	19	5 (26,3)	11	2 (18,2)	1,000	69	19 (27,5)	70	27 (38,6)	0,208
Hipertensión arterial (n, %)	19	15 (78,9)	11	9 (81,8)	1,000	69	59 (85,5)	70	52 (74,3)	0,138
Dislipidemia (n, %)	19	13 (68,4)	11	9 (81,8)	0,672	69	49 (71,0)	69	37 (53,6)	0,053
Sobrepeso (n, %)	19	8 (42,1)	11	7 (63,6)	0,450	68	27 (39,7)	70	52 (74,3)	<0,001
Cardiopatía isquémica (n, %)	19	9 (47,7)	-	N/A	-	69	23 (33,3)	0	N/A	-
Tratamiento previo con estatinas (n, %)	19	15 (78,9)	11	7 (63,6)	0,417	67	60 (89,6)	70	29 (41,4)	<0,001
Grado de estenosis (%)	15	80 (70-80)	-	0 (0)	-	59	80 (70-80)	0	<30%	-
Estenosis contralateral (n, %)	19	8 (42,1)	-	0 (0)	-	43	23 (34,8)	0	0 (0)	-
Colesterol total (mg/dl)	12	171,08 ± 71,286	11	192,36 ± 40,190	0,394	44	151,5 (124,3-179,5)	69	187 (156-205)	<0,001
HDL (mg/dl)	11	44,36 ± 8,869	11	48,64 ± 11,378	0,338	42	44 (38-51,3)	69	48 (41-56,5)	0,094
LDL (mg/dl)	10	88,5 (56,75-105,75)	10	119 (96,5-125,5)	0,063	39	72 (57-105)	67	110 (89-126)	<0,001
Triglicéridos (mg/dl)	12	110 (75,75-196)	11	126 (89-201)	0,740	43	125 (83-187)	69	119 (91-156)	0,962

RESULTADOS

miRNAs cualitativos como biomarcadores diagnósticos

CRIBADO



ECA

Vs.

CTRLS

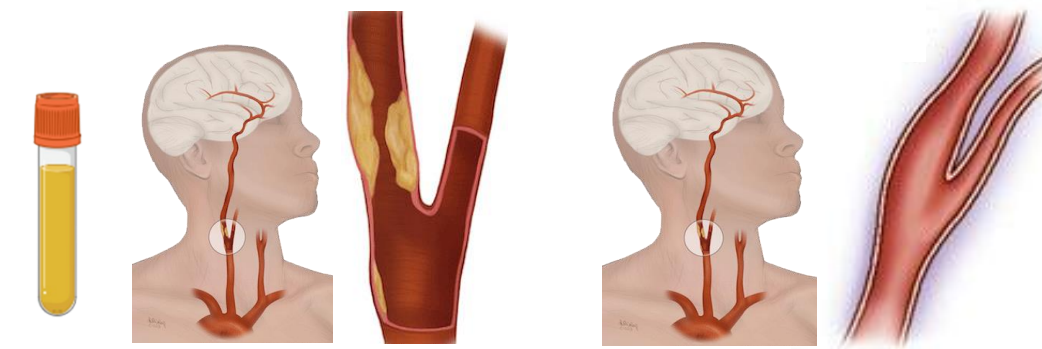
**$\geq 70\%$ de
expresión**

**$\leq 20\%$ de
expresión**

RESULTADOS

miRNAs cualitativos como biomarcadores diagnósticos

CRIBADO



ECA

Vs.

CTRLS

≥ 70% de expresión

≤ 20% de expresión

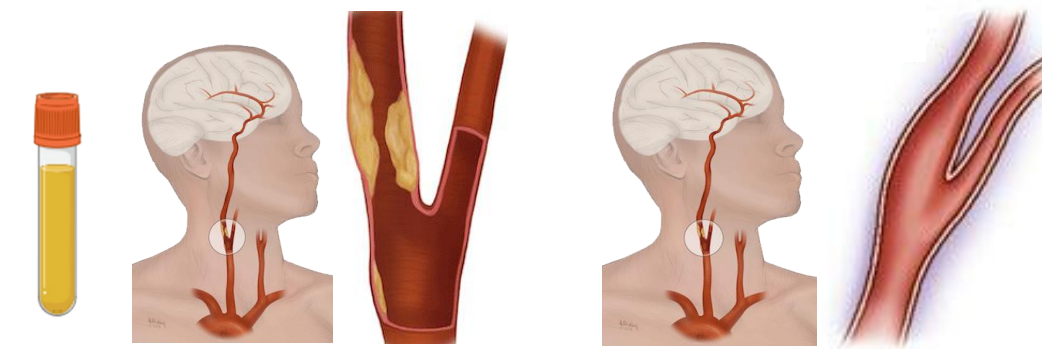
	miR-A	miR-F	miR-G	miR-H	miR-I	miR-J	miR-B	miR-C	miR-D	miR-K	miR-L	miR-E
	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
CTRL1	0	0	9	0	0	0	0	0	0	18	9	9
ECA	95	80	80	90	90	85	75	75	80	85	75	75

RESULTADOS

miRNAs cualitativos como biomarcadores diagnósticos

VALIDACIÓN

	miR-A	miR-F	miR-G	miR-H	miR-I	miR-J	miR-B	miR-C	miR-D	miR-K	miR-L	miR-E
	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
CTRLS	14	100	0	1	100	97	11	14	10	10	100	0
ECA	93	99	22	45	100	99	78	74	80	61	100	70



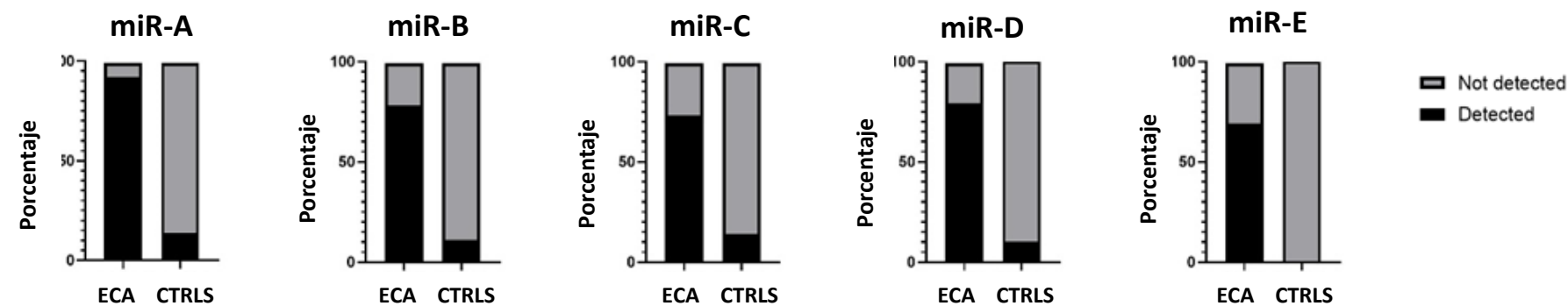
ECA

Vs.

CTRLS

≥ 70% de expresión

≤ 20% de expresión



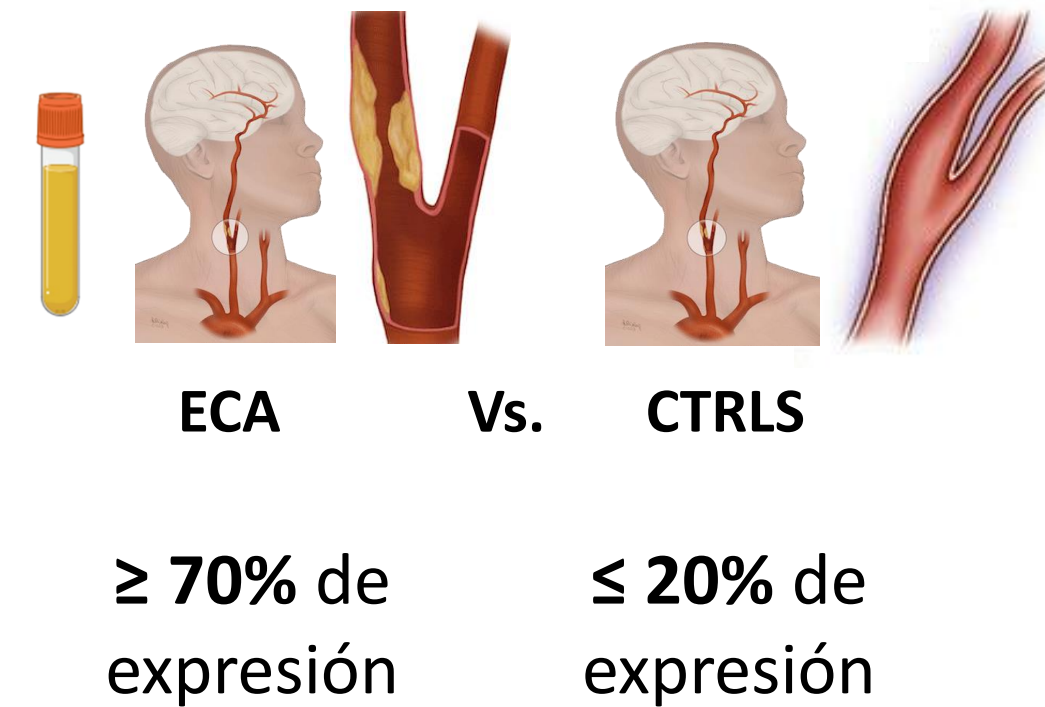
5 miRNAs cualitativos para el diagnóstico de ECA severa

RESULTADOS

miRNAs cualitativos como biomarcadores diagnósticos

VALIDACIÓN

miRNA	p-valor	Odds Ratio	Intervalo de confianza		Porcentaje de exactitud (%)
miR-A	<0.001	96.577	23.145	402.991	91.2
miR-B	<0.001	21.460	7.256	63.472	84.7
miR-C	<0.001	19.211	6.430	57.398	81.0
miR-D	<0.001	42.101	10.532	168.304	84.7
miR-E	-	-	-	-	-

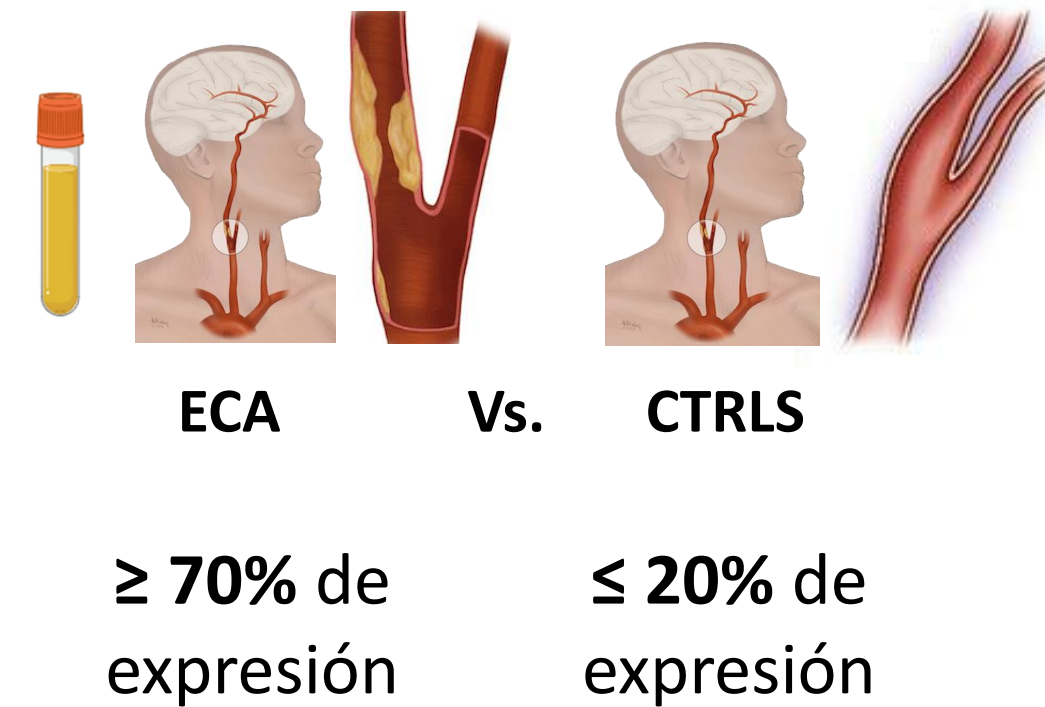


RESULTADOS

miRNAs cualitativos como biomarcadores diagnósticos

VALIDACIÓN

miRNA	p-valor	Odds Ratio	Intervalo de confianza		Porcentaje de exactitud (%)
miR-A	<0.001	96.577	23.145	402.991	91.2
miR-B	<0.001	21.460	7.256	63.472	84.7
miR-C	<0.001	19.211	6.430	57.398	81.0
miR-D	<0.001	42.101	10.532	168.304	84.7
miR-E*	-	-	-	-	-



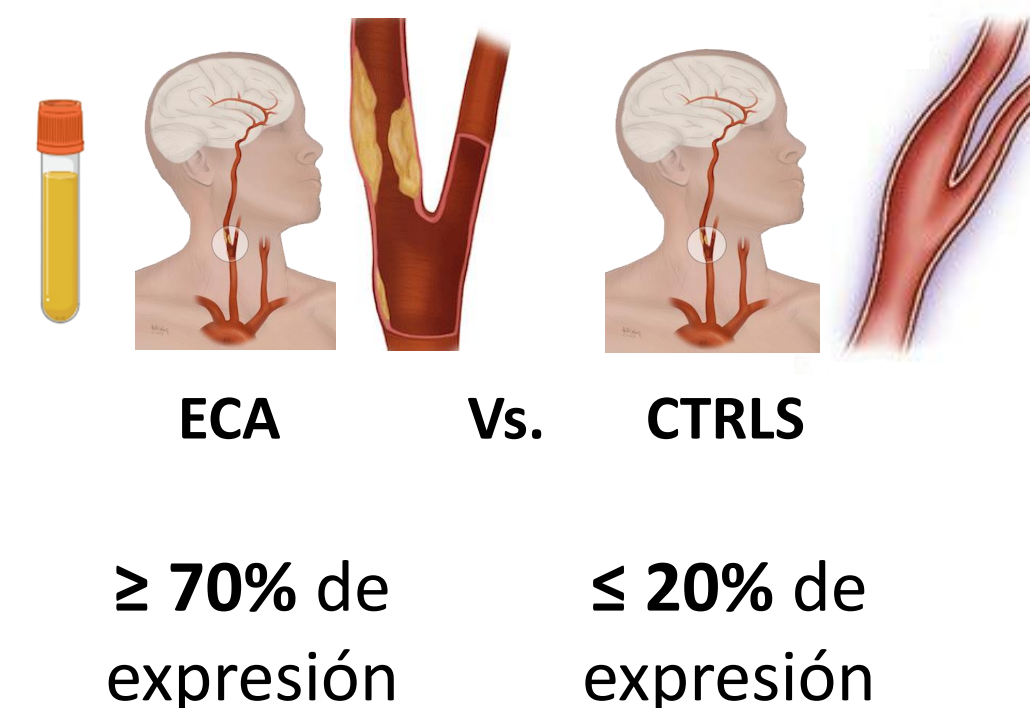
RESULTADOS

miRNAs cualitativos como biomarcadores diagnósticos

VALIDACIÓN

miRNA	p-valor	Odds Ratio	Intervalo de confianza		Porcentaje de exactitud (%)
miR-A	<0.001	96.577	23.145	402.991	91.2
miR-B	<0.001	21.460	7.256	63.472	84.7
miR-C	<0.001	19.211	6.430	57.398	81.0
miR-D	<0.001	42.101	10.532	168.304	84.7
miR-E	-	-	-	-	-

Modelo de regresión logística	Variables del modelo	p-valor	Odds Ratio	Intervalo de confianza	Porcentaje de exactitud (%)
Multivariante	miR-B	0.001	8.345	2.462 - 28.288	85.4
	miR-C	0.002	7.090	2.085 - 24.110	
	Age	0.600	0.979	0.904 - 1.060	
	Sex	0.253	2.299	0.551 - 9.585	
	Statin use	< 0.001	10.556	2.870 - 38.823	
	Hypertension	0.199	2.682	0.595 - 12.098	
	Smoking status	0.763	1.223	0.331 - 4.518	



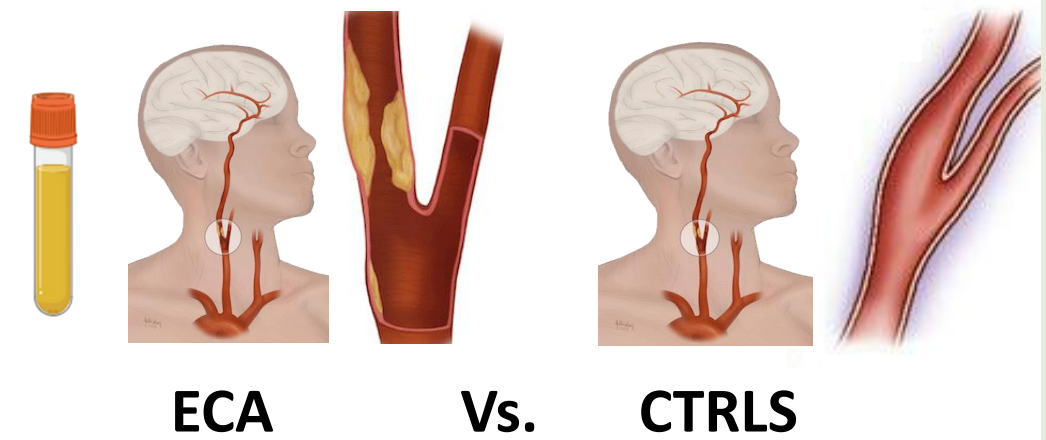
miR-B y miR-C significativos para ECA, con un 85.4% de precisión

RESULTADOS

miRNAs cualitativos como biomarcadores diagnósticos

CUALITATIVOS:

- miR-A
- miR-C
- miR-D
- miR-B
- miR-E



RESULTADOS

miRNAs cualitativos como biomarcadores diagnósticos

CUALITATIVOS:

. miR-A

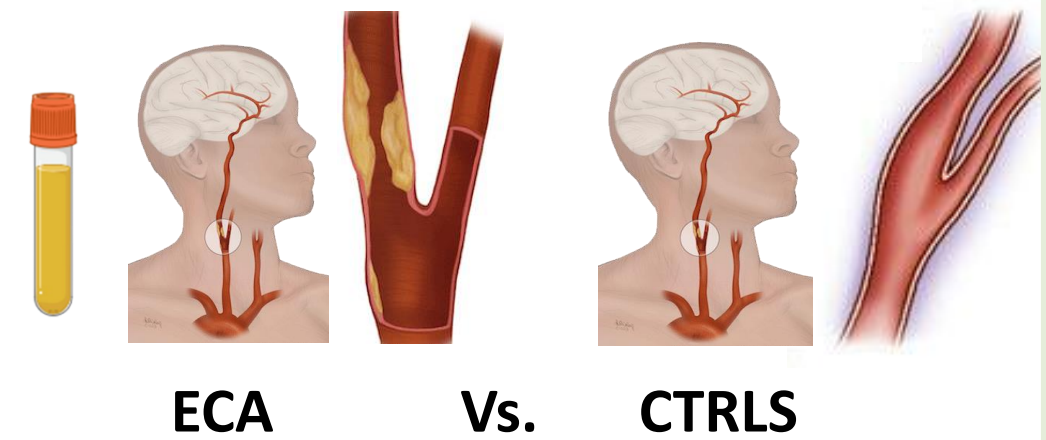
No descritos en aterosclerosis

. miR-C

. miR-D

. miR-B

. miR-E



RESULTADOS

miRNAs cualitativos como biomarcadores diagnósticos

CUALITATIVOS:

. miR-A

No descritos en aterosclerosis

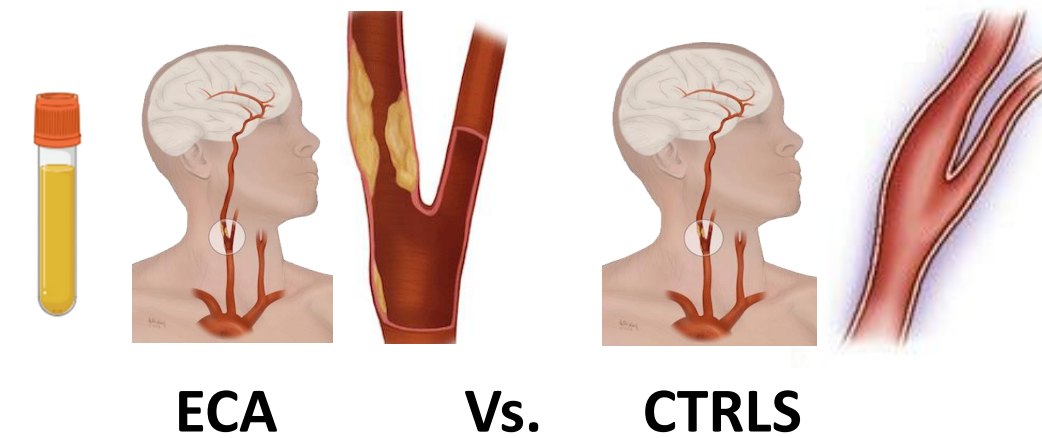
. miR-C

. miR-D

. miR-B

Descritos previamente en aterosclerosis u otras condiciones vasculares

. miR-E



RESULTADOS

miRNAs cualitativos como biomarcadores diagnósticos

CUALITATIVOS:

· miR-A

No descritos en aterosclerosis

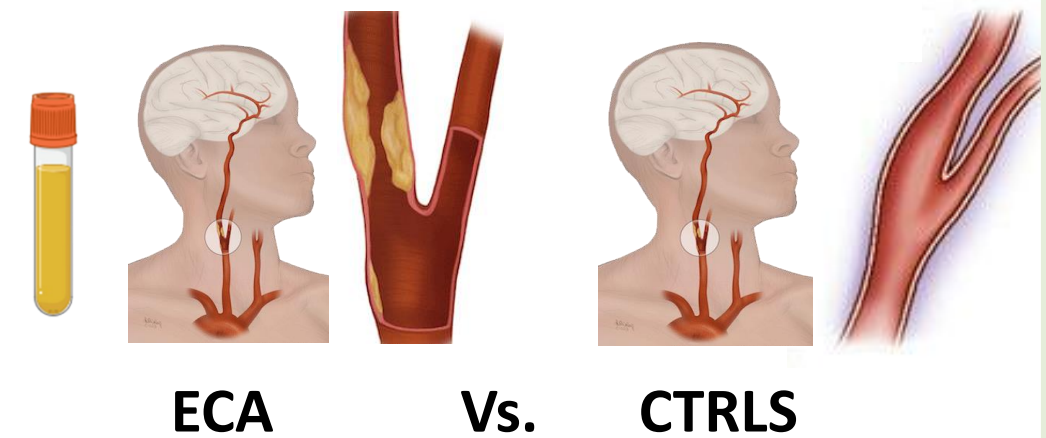
· **miR-C**

· miR-D

· **miR-B**

Descritos previamente en aterosclerosis u otras condiciones vasculares

· miR-E



RESULTADOS

miRNAs cualitativos como biomarcadores diagnósticos

CUALITATIVOS:

· miR-A

No descritos en aterosclerosis

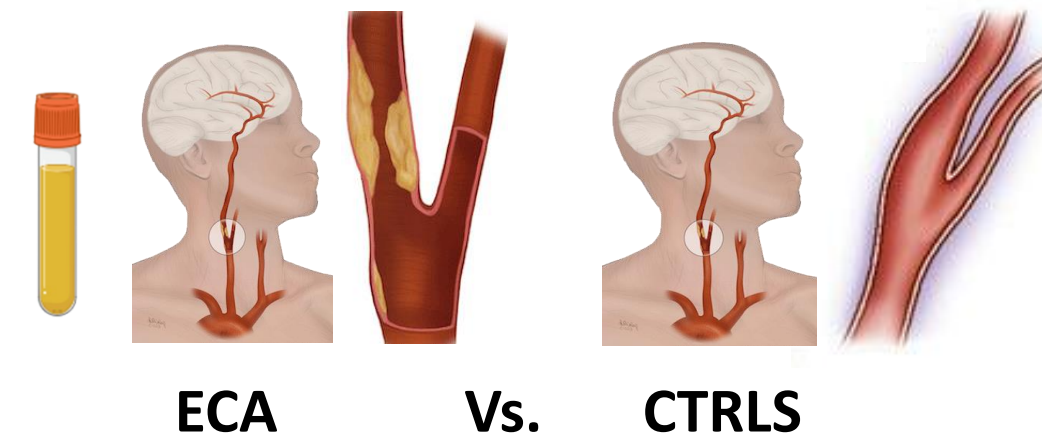
· miR-C

· miR-D

· miR-B

Descritos previamente en aterosclerosis u otras condiciones vasculares

· miR-E



RESULTADOS

miRNAs cuantitativos como biomarcadores diagnósticos

CRIBADO



ECA

Vs.

CTRLS

**≥ 70% de
expresión**

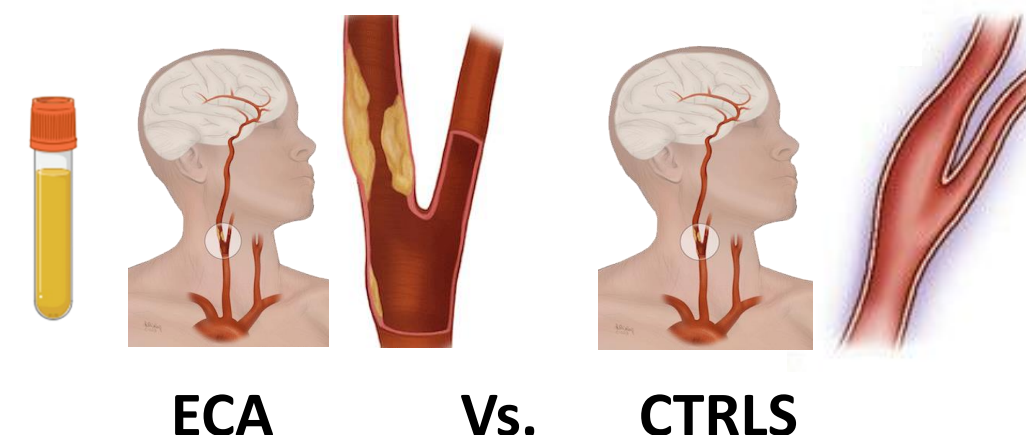
**≥ 70% de
expresión**

RESULTADOS

miRNAs cuantitativos como biomarcadores diagnósticos

CRIBADO

miRNA	Normalización global		Normalización endógenos		Expresión
	p-valor	FC ECA	p-valor	FC ECA	
miR-XX1	<0.001	7.41	<0.001	8.15	Sobrerregulado en ambas normalizaciones
miR-XX2	<0.001	6.20	<0.001	6.67	
miR-XX3	0.001	5.37	0.001	6.06	
miR-XX4	<0.001	4.19	<0.001	4.59	
miR-XX5	<0.001	4.07	<0.001	4.38	
miR-XX6	<0.001	3.81	<0.001	4.08	
miR-XX7	<0.001	3.44	<0.001	3.90	
miR-XX8	0.004	3.30	0.005	3.77	
miR-XX9	<0.001	3.30	<0.001	3.60	
miR-X10	0.005	3.03	0.001	3.30	
miR-X11	<0.001	3.02	<0.001	3.27	
miR-X12	<0.001	2.93	<0.001	3.14	
miR-X13	0.004	2.86	0.001	3.10	
miR-X14	<0.001	2.68	<0.001	2.93	
miR-X15	0.002	2.62	0.002	2.89	
miR-X16	<0.001	2.45	<0.001	2.66	
miR-X17	<0.001	2.41	<0.001	2.63	
miR-X18	0.001	2.25	0.002	2.46	
miR-X19	<0.001	2.23	<0.001	2.48	
miR-X20	0.003	2.22	0.003	2.40	
miR-X21	<0.001	2.03	<0.001	2.28	
miR-X22	0.003	2.01	0.004	2.19	
miR-X23	<0.001	-2.24	<0.001	-2.03	Infra regulado en ambas normalizaciones
miR-X24	0.003	-2.31	<0.001	-2.03	
miR-X25	<0.001	-2.40	<0.001	-2.15	
miR-X26	<0.001	-2.46	<0.001	-2.21	
miR-X27	<0.001	-2.48	<0.001	-2.16	
miR-X28	<0.001	-2.68	<0.001	-2.49	
miR-X29	<0.001	-2.83	<0.001	-2.52	
miR-X30	<0.001	-2.85	<0.001	-2.66	
miR-X31	<0.001	-3.09	<0.001	-2.94	
miR-X32	<0.001	-3.18	<0.001	-2.82	
miR-X33	<0.001	-3.20	<0.001	-2.98	
miR-X34	<0.001	-3.59	<0.001	-3.22	
miR-X35	0.019	1.82	0.010	1.99	



GLOBAL	ENDÓGENOS
37	40

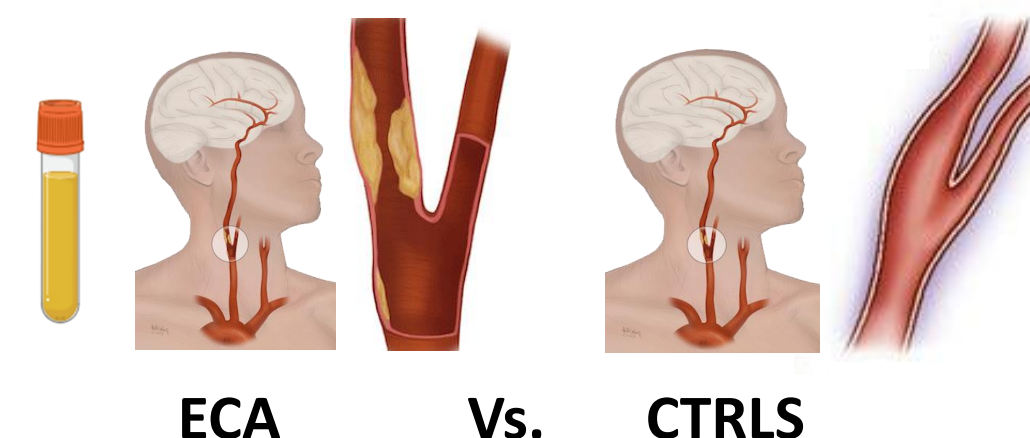
34 miRNAs comunes con diferencias significativas
+
1 miRNA por bibliografía

RESULTADOS

miRNAs cuantitativos como biomarcadores diagnósticos

VALIDACIÓN

miRNA	Cribado		Validación		Concordancia en la validación		
	Normalización global	Normalización endógenos	Normalización per endógenos	Normalización per endógenos			
	p-valor	FC ECA	p-valor	FC ECA			
miR-XX9	< 0.001	3.30	< 0.001	3.60	< 0.001	8.08	Coinciden
miR-XX6	< 0.001	3.81	< 0.001	4.08	< 0.001	11.85	
miR-X22	0.003	2.01	0.004	2.19	< 0.001	5.61	
miR-X21	< 0.001	2.03	< 0.001	2.28	< 0.001	3.71	
miR-X17	< 0.001	2.41	< 0.001	2.63	< 0.001	7.81	
miR-X20	0.003	2.22	0.003	2.40	< 0.001	14.85	
miR-X18	0.001	2.25	0.002	2.46	< 0.001	8.48	
miR-X14	< 0.001	2.68	< 0.001	2.93	< 0.001	8.42	
miR-X10	0.005	3.03	0.001	3.30	< 0.001	14.89	
miR-XX1	< 0.001	7.41	< 0.001	8.15	< 0.001	21.49	
miR-X12	< 0.001	2.93	< 0.001	3.14	< 0.001	15.35	
miR-X11	< 0.001	3.02	< 0.001	3.27	< 0.001	9.02	
miR-XX7	< 0.001	3.44	< 0.001	3.90	< 0.001	6.92	
miR-XX8	0.004	3.30	0.005	3.77	< 0.001	11.36	
miR-XX2	< 0.001	6.20	< 0.001	6.67	< 0.001	18.27	
miR-XX5	< 0.001	4.07	< 0.001	4.38	< 0.001	7.44	
miR-X19	< 0.001	2.23	< 0.001	2.48	< 0.001	9.13	
miR-X16	< 0.001	2.45	< 0.001	2.66	< 0.001	14.66	
miR-X35	0.019	1.82	0.010	1.99	< 0.001	4.08	
miR-X25	< 0.001	-2.40	< 0.001	-2.15	< 0.001	2.60	
miR-X24	0.003	-2.31	< 0.001	-2.03	< 0.001	3.43	
miR-X30	< 0.001	-2.85	< 0.001	-2.66	< 0.001	2.45	
miR-X33	< 0.001	-3.20	< 0.001	-2.98	< 0.001	2.60	
miR-X23	< 0.001	-2.24	< 0.001	-2.03	< 0.001	2.60	
miR-X26	< 0.001	-2.46	< 0.001	-2.21	< 0.001	2.11	



25 miRNAs con diferencias significativas



19 miRNAs coinciden en expresión

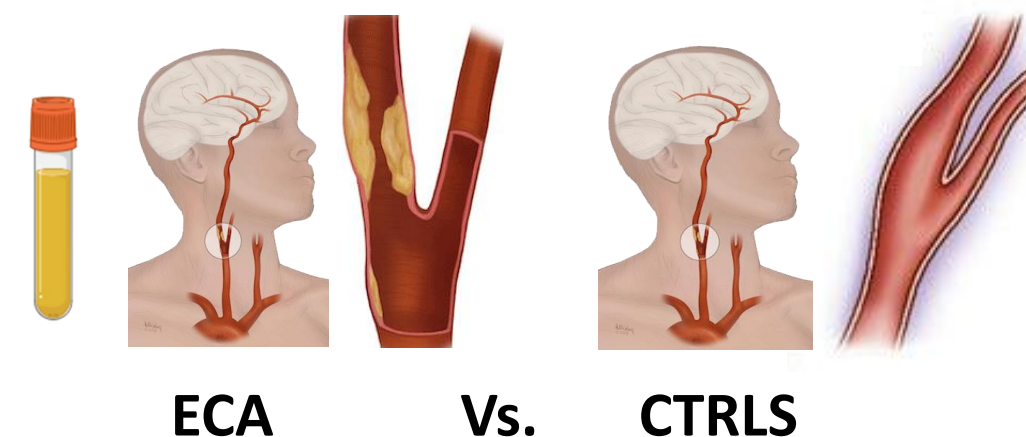
19 miRNAs cuantitativos para el diagnóstico de ECA severa

RESULTADOS

miRNAs cuantitativos como biomarcadores diagnósticos

VALIDACIÓN

miRNAs	AUC	CI	Punto de corte de Youden	Especificidad (%)	Sensibilidad (%)	VPP (%)	VPN (%)
miR-X16	0.963	0.925-1.000	3.390	100	88.4	100	99.6
miR-XX2	0.982	0.964-0.999	4.585	98.5	91.3	66.1	99.7
miR-X19	0.933	0.889-0.977	3.274	98.1	82.6	58.2	99.4
miR-X14	0.952	0.916-0.988	2.267	97.1	88.4	49.4	99.6
miR-X35	0.981	0.966-0.997	1.818	97.1	87	49	99.6
miR-X11	0.943	0.902-0.984	2.666	97.1	85.5	48.5	99.5
miR-XX1	0.977	0.957-0.998	3.266	95.7	92.8	40.8	99.8
miR-X20	0.963	0.929-0.997	2.610	95.7	91.3	40.5	99.7
miR-X12	0.968	0.941-0.996	2.953	95.3	92.8	38.7	99.8
miR-X17	0.957	0.922-0.991	2.325	94.2	92.8	33.9	99.8
miR-X10	0.953	0.914-0.992	2.755	94.4	89.9	33.9	99.7
miR-XX5	0.966	0.938-0.994	1.860	91.4	92.8	25.7	99.7
miR-X18	0.956	0.924-0.989	2.251	91.4	91.3	25.4	99.7
miR-XX9	0.949	0.909-0.989	1.952	91.4	89.9	25.1	99.6
miR-XX6	0.963	0.934-0.993	2.295	91	92.8	24.8	99.7
miR-X22	0.925	0.876-0.975	2.094	91	87.9	23.8	99.6
miR-X21	0.902	0.848-0.956	1.659	86.7	85.3	17	99.5
miR-XX7	0.854	0.787-0.921	2.163	86.9	77.6	15.9	99.2
miR-XX8	0.897	0.843-0.950	2.028	78	87.7	11.3	99.5



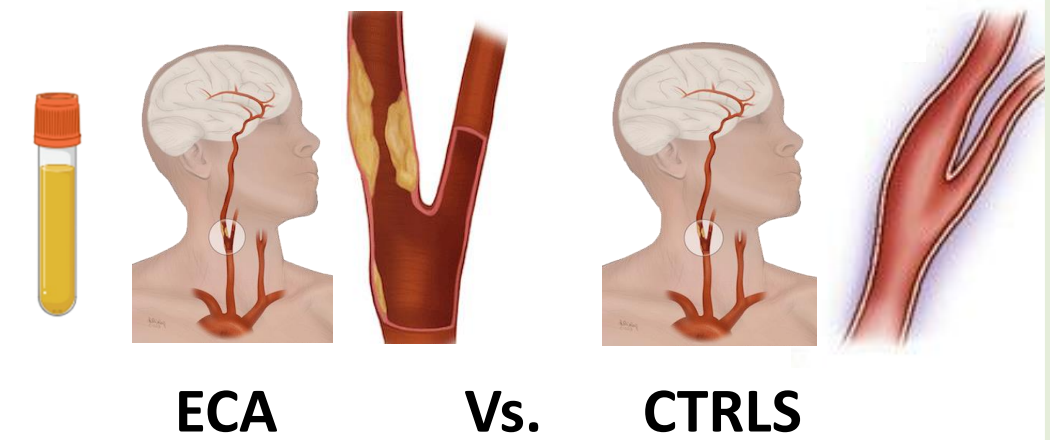
Se seleccionan los 3 mejores miRNAs según el VPP para modelos de regresión

RESULTADOS

miRNAs cuantitativos como biomarcadores diagnósticos

VALIDACIÓN

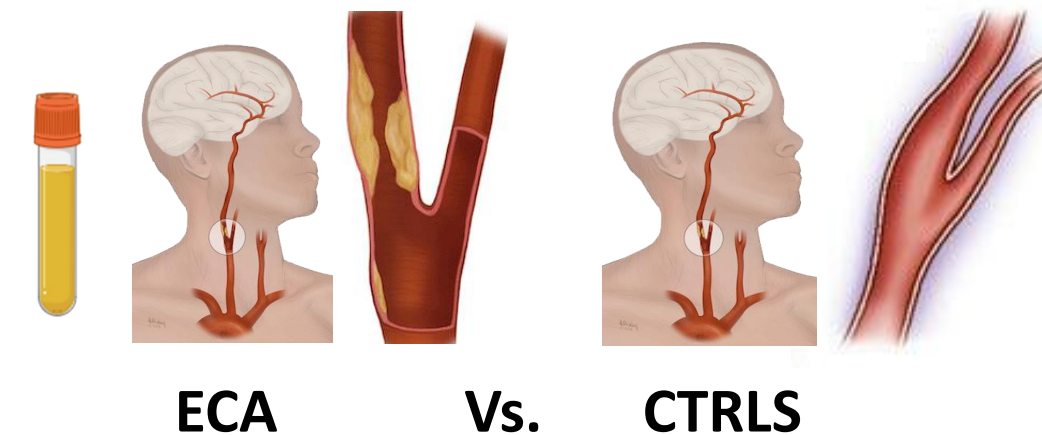
miRNAs	p-valor	Odds Ratio	Intervalo de confianza	Porcentaje de exactitud (%)
miR-X16	< 0.001	5.038	2.456 - 10.336	93.4
miR-XX2	< 0.001	2.975	1.872 - 4.730	91.8
miR-X19	< 0.001	4.514	2.213 - 9.209	90.0



RESULTADOS

miRNAs cuantitativos como biomarcadores diagnósticos

VALIDACIÓN



miRNAs	p-valor	Odds Ratio	Intervalo de confianza	Porcentaje de exactitud (%)
miR-X16	< 0.001	5.038	2.456 - 10.336	93.4
miR-XX2	< 0.001	2.975	1.872 - 4.730	91.8
miR-X19	< 0.001	4.514	2.213 - 9.209	90.0

Model de regresión logística	Variables del modelo	p-valor	Odds Ratio	Intervalo de confianza	Porcentaje de exactitud (%)
Multivariant	miR-X16	0.017	3.253	1.232 - 8.588	95
	miR-XX2	0.048	1.788	1.004 - 3.183	
	Age	0.678	1.035	0.880 - 1.217	
	Sex	0.265	5.151	0.288 - 92.229	
	Statin use	0.294	3.588	0.330 - 39.035	
	Hypertension	0.291	15.732	0.094 - 2623.878	
	Smoking status	0.807	0.738	0.065 - 8.419	

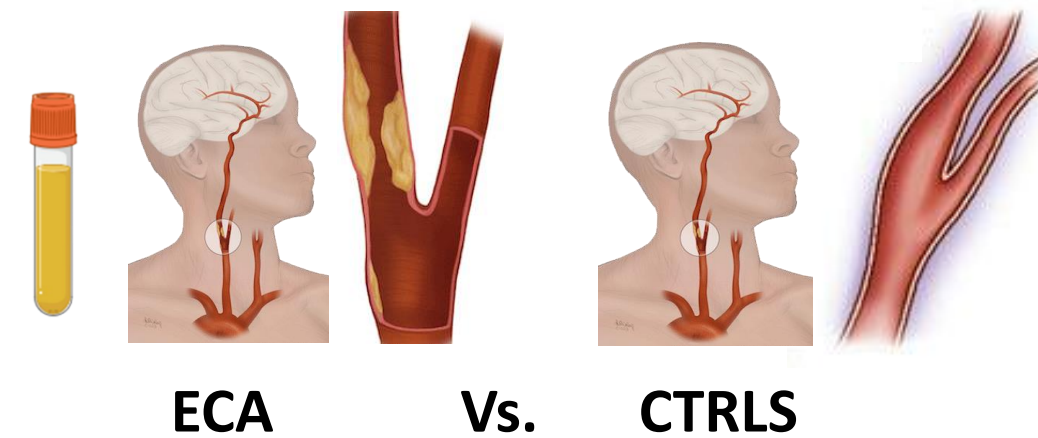
miR-X16 y miR-XX2 significativas para ECA, con un 95% de precisión

RESULTADOS

miRNAs cuantitativos como biomarcadores diagnósticos

CUANTITATIVOS

- miR-XX1
- miR-X12
- miR-XX6
- miR-X20
- miR-X16
- miR-X17
- miR-X10
- miR-X19
- miR-XX8
- miR-XX7
- miR-XX2
- miR-XX5
- miR-X14
- miR-X11
- miR-X22
- miR-X21
- miR-X35
- miR-XX9
- miR-X18



RESULTADOS

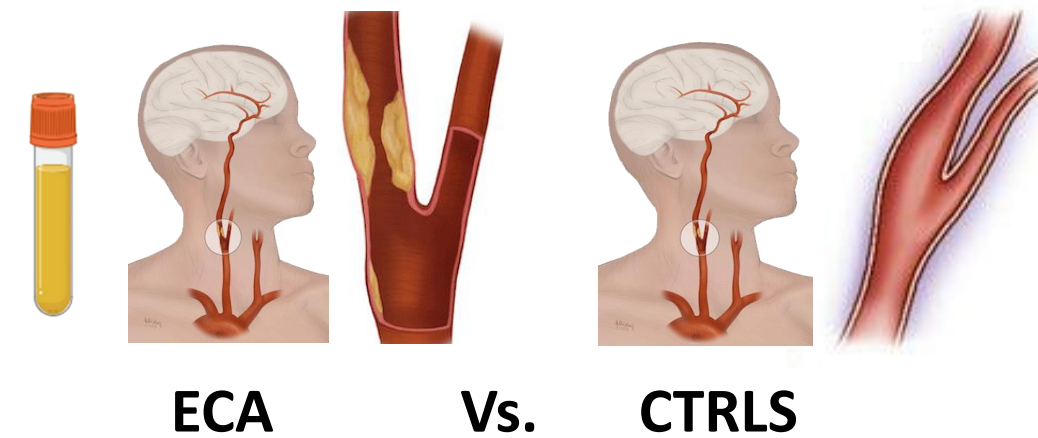
miRNAs cuantitativos como biomarcadores diagnósticos

CUANTITATIVOS

- miR-XX1
- miR-X12
- miR-XX6
- miR-X20
- miR-X16
- miR-X17
- miR-X10
- miR-X19
- miR-XX8
- miR-XX7

No descritos en
aterosclerosis

- miR-XX2
- miR-XX5
- miR-X14
- miR-X11
- miR-X22
- miR-X21
- miR-X35
- miR-XX9
- miR-X18

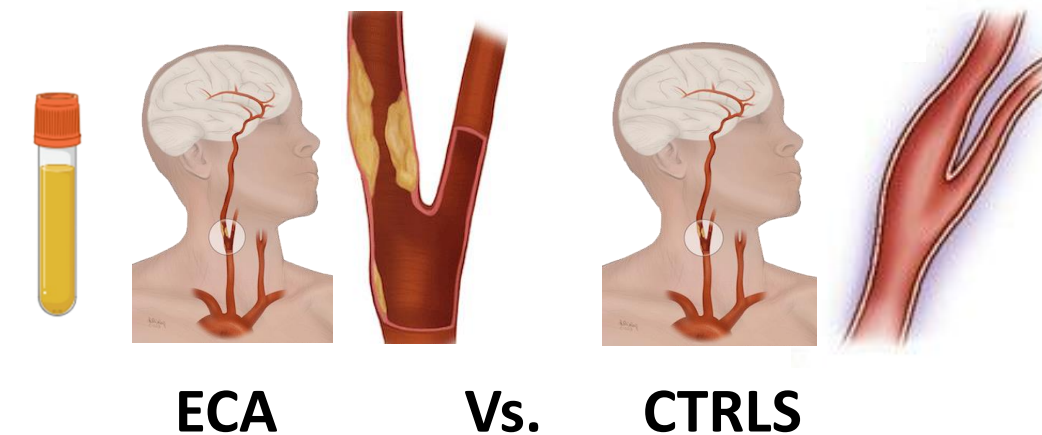


RESULTADOS

miRNAs cuantitativos como biomarcadores diagnósticos

CUANTITATIVOS

- miR-XX1
 - miR-X12
 - miR-XX6
 - miR-X20
 - miR-X16
 - miR-X17
 - miR-X10
 - miR-X19
 - miR-XX8
 - miR-XX7
- No descritos en aterosclerosis
- miR-XX2
 - miR-XX5
 - miR-X14
 - miR-X11
 - miR-X22
 - miR-X21
 - miR-X35
 - miR-XX9
 - miR-X18



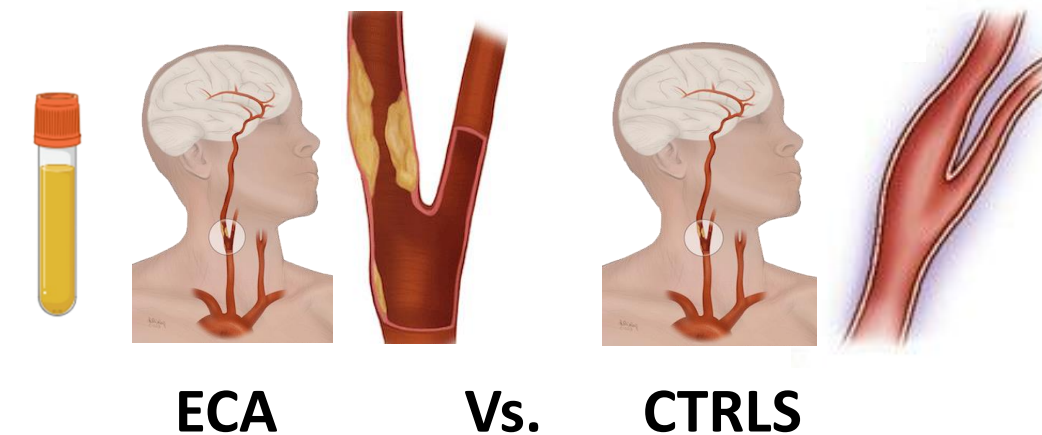
Descritos previamente en aterosclerosis u otras condiciones vasculares

RESULTADOS

miRNAs cuantitativos como biomarcadores diagnósticos

CUANTITATIVOS

- miR-XX1
 - miR-X12
 - miR-XX6
 - miR-X20
 - miR-X16
 - miR-X17
 - miR-X10
 - miR-X19
 - miR-XX8
 - miR-XX7
- No descritos en aterosclerosi
- miR-XX2
 - miR-XX5
 - miR-X14
 - miR-X11
 - miR-X22
 - miR-X21
- miR-X35
 - miR-XX9
 - miR-X18



Descrits prèviament en aterosclerosi o altres condicions vasculars

Descritos previamente como potenciales biomarcadores del diagnostico de ECA

RESULTADOS

miRNAs cuantitativos como biomarcadores diagnósticos

CUANTITATIVOS

- miR-XX1
- miR-X12
- miR-XX6
- miR-X20
- **miR-X16**
- miR-X17
- miR-X10
- miR-X19
- miR-XX8
- miR-XX7

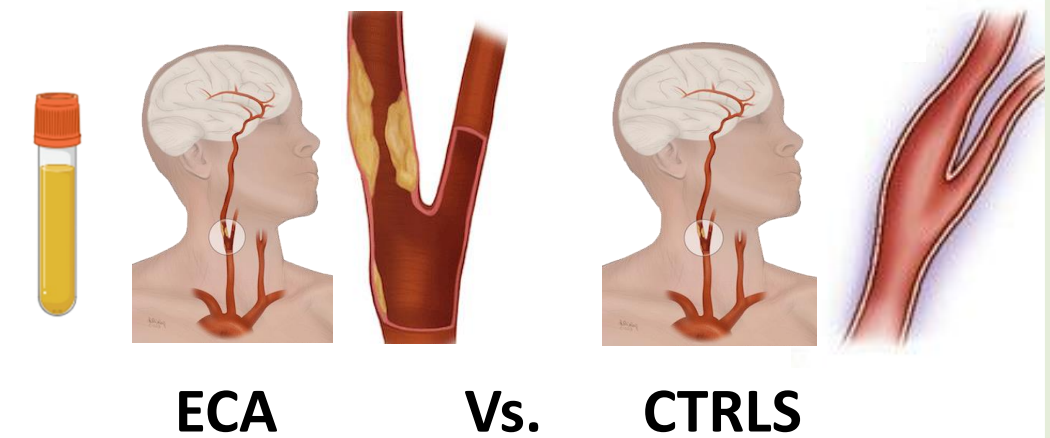
No descritos en
aterosclerosi

- **miR-XX2**
- miR-XX5
- miR-X14
- miR-X11
- miR-X22
- miR-X21

- miR-X35
- miR-XX9
- miR-X18

Descritos prèviament en aterosclerosi o altres
condicions vasculars

Descritos previamente como potenciales
biomarcadores del diagnostico de ECA



RESULTADOS

miRNAs cualitativos y cuantitativos como biomarcadores diagnósticos

Cualitativos

+

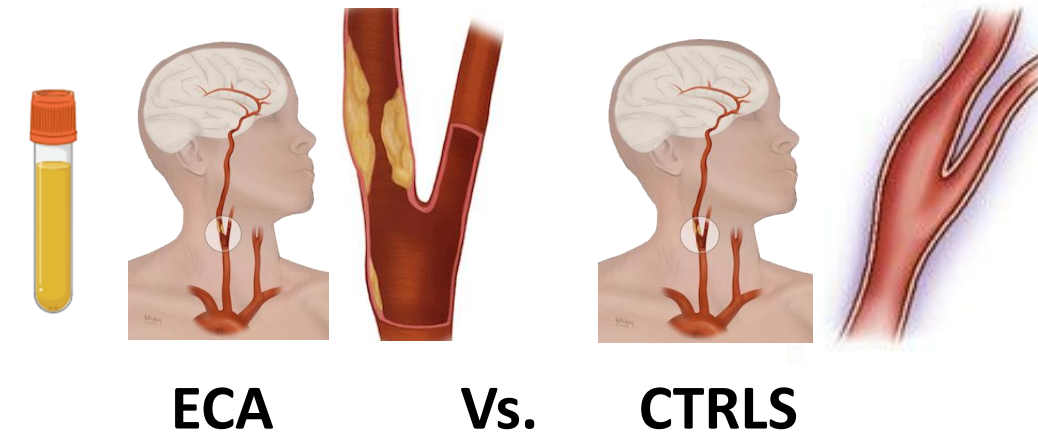
Cuantitativos



miR-B + miR-C



miR-X16 + miR-XX2



Modelo de regresión logística	VARIABLES del modelo	p-valor	Odds Ratio	Interval de confianza	Porcentaje de exactitud (%)
Multivariante	miR-X16	0.016	2.675	1.205 - 5.936	94
	miR-XX2	0.020	1.961	1.110 - 3.462	
	Age	0.950	0.995	0.862 - 1.150	
	Sex	0.351	3.290	0.269 - 40.244	
	Statin use	0.274	3.506	0.371 - 33.153	
	Hypertension	0.274	13.682	0.126 - 1486.885	
	Smoking status	0.885	0.849	0.091 - 7.881	

miR-X16 y miR-XX2 significativas para ECA, con un 94% de precisión

RESULTADOS

miRNAs cualitativos y cuantitativos como biomarcadores diagnósticos

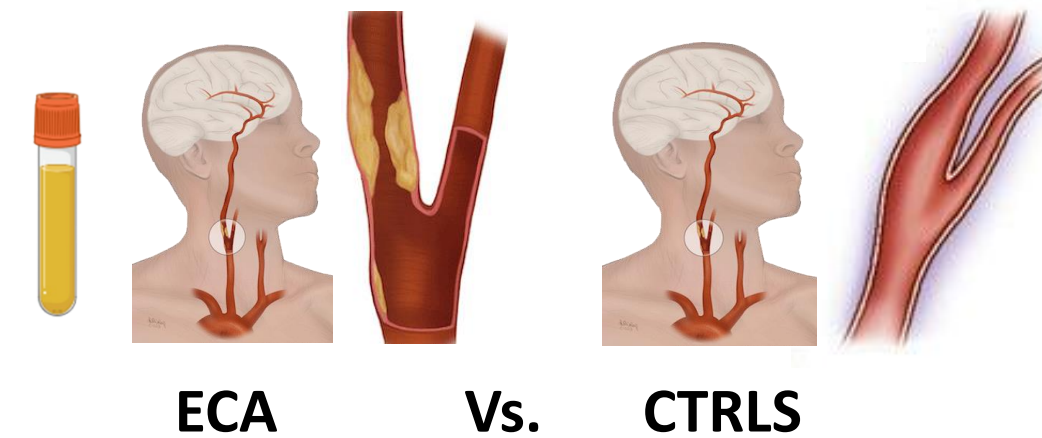
Cualitativos

+

Cuantitativos

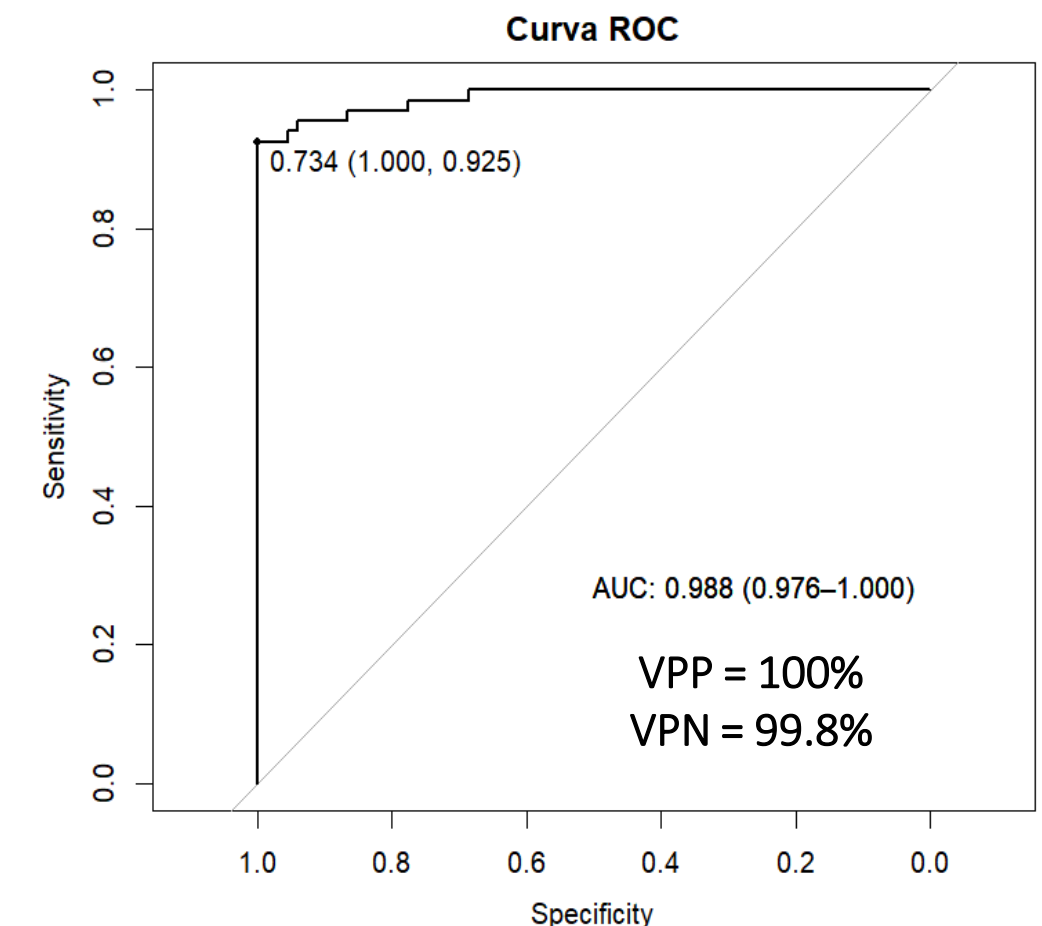
miR-B + miR-C

miR-X16 + miR-XX2



Modelo de regresión logística	VARIABLES del modelo	p-valor	Odds Ratio	Interval de confianza	Porcentaje de exactitud (%)
Multivariante	miR-X16	0.016	2.675	1.205 - 5.936	94
	miR-XX2	0.020	1.961	1.110 - 3.462	
	Age	0.950	0.995	0.862 - 1.150	
	Sex	0.351	3.290	0.269 - 40.244	
	Statin use	0.274	3.506	0.371 - 33.153	
	Hypertension	0.274	13.682	0.126 - 1486.885	
	Smoking status	0.885	0.849	0.091 - 7.881	

miR-X16 y miR-XX2 significativas para ECA, con un 94% de precisión



CONCLUSIONES

Se han identificado **biomarcadores diagnósticos de estenosis carotídea >70%** tanto **cualitativos** como **cuantitativos**, útiles para el **diagnóstico precoz** en individuos con **factores de riesgo vascular** para la prevención del **ictus**.

MEJOR COMBINACIÓN CUALITATIVOS

miR-B

miR-C

MEJOR COMBINACIÓN CUANTITATIVOS

miR-X16

miR-XX2



MEJOR COMBINACIÓN COMBINADOS

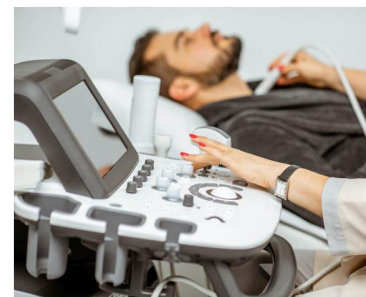
miR-X16

miR-XX2



Protocolos clínicos de atención primaria para la población con factores de riesgo vascular

Ecografía (Doppler)



Angiografía por tomografía computada



Angiografía por resonancia magnética



Angiografía por sustracción digital

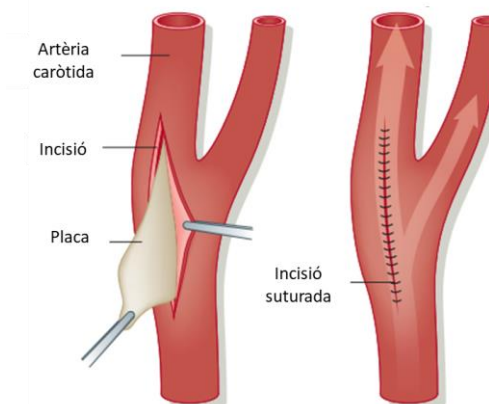


Mejor tratamiento médico (MTM)

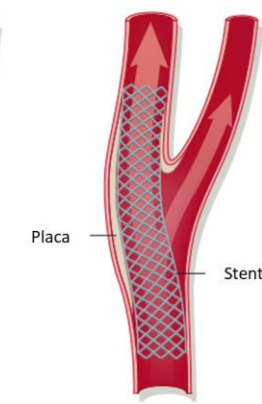


+

Endarterectomía carotídea



Stent carotídeo



VALIDACIÓN INTERHOSPITALARIA

Grupos de la Red interesados en colaborar que dispongan de:



**MUESTRAS DE PLASMA DE PACIENTES
ACAS >70% DE ESTENOSIS**

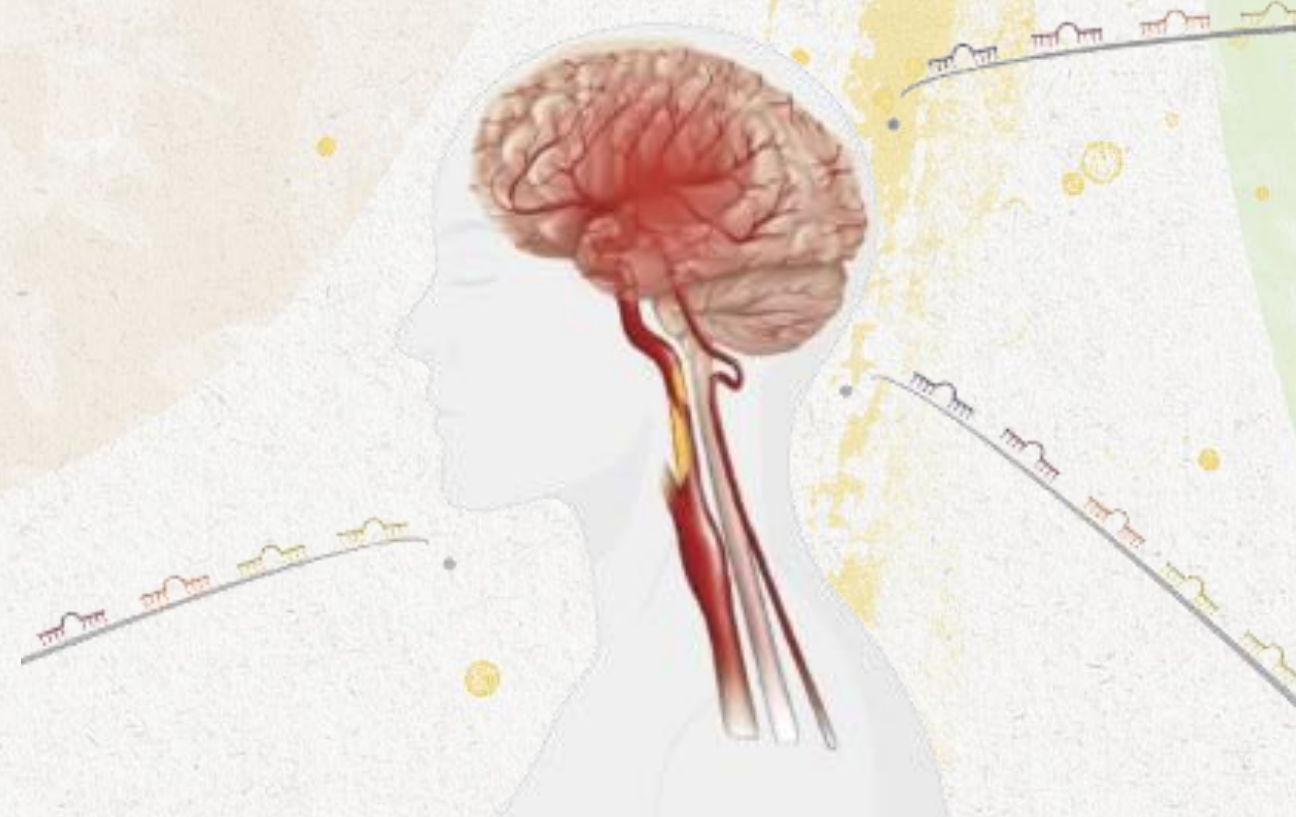
Contacto:

ysilva.girona.ics@gencat.cat

cgubern@idibgi.org

lcarballo@idibgi.org

miRNAs circulantes como biomarcadores diagnósticos de estenosis carotídea asintomática significativa



Laia Carballo Perich

Institut d'Investigació Biomèdica de Girona (IDIBGI) – Hospital Universitari Dr. Josep Trueta, Girona