



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

***Nuevos Biomarcadores en el Diagnóstico  
y Pronóstico de Enfermedades  
Cardiovasculares***

**Autor:** Bárbara Otero Victorero

**Fecha:** Julio 2020

**Tutor:** M<sup>a</sup> de la Almodena Gómez Hernández

## ÍNDICE

<b>1. RESUMEN.....</b>	<b>3</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Epidemiología .....</b>	<b>4</b>
<b>2.2 Aterosclerosis .....</b>	<b>5</b>
<b>2.3 Biomarcadores .....</b>	<b>6</b>
<b>2.4 Biomarcadores clásicos .....</b>	<b>7</b>
<b>2.5 Nuevos biomarcadores .....</b>	<b>9</b>
2.5.1 Micro-RNAs.....	9
2.5.2 Micropartículas.....	10
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>11</b>
<b>4. METODOLOGÍA .....</b>	<b>11</b>
<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>11</b>
<b>5.1 Micro-RNAs .....</b>	<b>11</b>
<b>5.2 Micropartículas (MPs).....</b>	<b>15</b>
<b>6. CONCLUSIÓN.....</b>	<b>17</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>17</b>

## **1. RESUMEN**

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en los países desarrollados. Es por ello, que se necesitan herramientas cada vez más precisas y rápidas para poder abordarlas, desde el punto de vista diagnóstico y terapéutico, de la manera más rápida posible.

Los biomarcadores son herramientas que nos ayudan a este propósito gracias a sus características y facilidad de medición.

La investigación de nuevos biomarcadores es un campo en auge que nos puede proporcionar nuevas perspectivas diagnósticas y terapéuticas en el tratamiento de estas enfermedades, como por ejemplo los microRNAs y las micropartículas.

Palabras clave: biomarcador, aterosclerosis, diagnóstico, pronóstico, tratamiento, micro-RNA, micropartículas

### **Abstract**

Cardiovascular diseases are the leading cause of death in developed countries. It is for this reason, that precise and fast tools are needed in order to approach them, from both diagnostic and therapeutic points of view, in the fastest possible way.

Biomarkers are tools that help us to this end thanks to their characteristics and ease of measurement.

The investigation of new biomarkers is a booming field that can provide us with new diagnostic and therapeutic perspectives in the treatment of these diseases, such as microRNAs and microparticles.

Key words: biomarker, atherosclerosis, diagnosis, prognosis, treatment, micro-RNA, microparticles

## **2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES**

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son un grupo de desórdenes del corazón y de los vasos sanguíneos de distinto calibre que se consideran la principal causa de muerte en el primer mundo.

Según su localización se clasifican en [1]:

### **1. Cardiopatías**

- Fallo cardiaco y *cor pulmonale*
- Cardiopatía congénita
- Valvulopatías
- Cardiomiopatía y miocarditis
- Enfermedad del pericardio

- Arritmias
- Shock cardiogénico
- Muerte súbita cardíaca
- Cardiopatía reumática
- Tumores del corazón

## 2. Enfermedades de los vasos sanguíneos

- Ateroesclerosis
- Desordenes del metabolismo de lipoproteínas
- Cardiopatía coronaria
  - Angina de pecho
  - Síndrome coronario agudo
- Enfermedad cerebrovascular:
  - Ictus
  - Isquemia transitoria
  - Anormalidades cerebrovasculares
- Hipertensión arterial
- Enfermedades de la aorta
- Enfermedades vasculares de las extremidades

La **cardiopatía coronaria** y la **enfermedad cerebrovascular** son las principales causas de muerte dentro de las enfermedades cardiovasculares y presentan, en la mayoría de los casos, un origen común: la **aterosclerosis**.

### 2.1 Epidemiología

Las cifras de muerte por enfermedades cardiovasculares irán en aumento en los próximos años, como consecuencia de la mayor longevidad de la población. A continuación, indico los datos más actualizados proporcionados por la Fundación del Corazón en este mismo año [2].

- Cifras globales:
  - **2008**: 17,3 millones de muertes debido a enfermedades cardiovasculares, lo que representa un 30% del total de muertes registradas en el mundo.
  - **2015**: 17,7 millones de muertes debido a enfermedades cardiovasculares, lo que representa un 31% del total de muertes registradas en el mundo.
  - **2030**: se estima un total de 23,3 millones de muertes debido a enfermedades cardiovasculares, principalmente debido al envejecimiento de la población.

- En España:

En el último informe *Defunciones según la causa* del Instituto Nacional de Estadística (INE) se advierte de que en España la enfermedad cardiovascular es también la **primera causa de muerte**, por delante incluso del cáncer y las enfermedades respiratorias.

Según los datos aportados por el Instituto Nacional de Estadística (INE), la incidencia de las enfermedades según el **sexo** sería superior en mujeres que en hombres.

- Mujeres: **67.736** fallecimientos anuales
- Hombres: **56.461** fallecimientos anuales

Esto supone un **6%** más de muertes entre las mujeres.

## **2.2 Aterosclerosis**

Como se ha mencionado anteriormente, la **aterosclerosis** es la causa subyacente en el desarrollo de estas enfermedades cardiovasculares.

La aterosclerosis se trata de una enfermedad crónica inflamatoria que afecta principalmente a las arterias de mediano y gran calibre.

La lesión inicial comienza con la formación de una estría grasa en la pared arterial, una lesión básicamente inflamatoria que contiene macrófagos y linfocitos T.

La aterosclerosis se inicia con en la disfunción endotelial, que se trata de un desequilibrio en la liberación de agentes vasodilatadores y vasoconstrictores y la expresión de moléculas de adhesión. Esta disfunción endotelial se produce como consecuencia de un daño al endotelio por diferentes factores, como: radicales libres, LDL, homocisteína, infecciones...

Este daño al endotelio provoca que células inflamatorias como monocitos, linfocitos T y macrófagos sean reclutadas por la liberación de factores quimiotácticos y se adhieran al endotelio vascular. A continuación, pueden migrar al espacio subendotelial. Además, este daño al endotelio hace que éste libere numerosas moléculas vasoactivas como citoquinas inflamatorias y factores de crecimiento, que contribuyen al proceso inflamatorio.

Esta inflamación en el endotelio provoca la migración y proliferación de las células de músculo liso vascular (VSMC) haciendo que la estría grasa se engrose cada vez más en la pared arterial.

La inflamación crónica hace que se genere un medio pro-aterogénico el cual hace que el número de células inflamatorias aumente, se acumulen lipoproteínas y esto estimulará la diferenciación de monocitos en macrófagos y a su vez a medida que van capturando las LDL modificadas se transformarán en las células espumosas.

A medida que avanza la inflamación se favorece la agregación plaquetaria, y posteriormente se le sumará colágeno y más células musculares. Esto hace que la pared arterial se engrose cada vez más provocando la reestructuración a una capa fibrosa que cubre a un núcleo de lípidos y necrosis, generándose una lesión más avanzada, fibroateroma, que puede dar lugar a isquemia [3,4].

Los **factores de riesgo cardiovascular** han sido y son útiles herramientas para predecir el riesgo de sufrir un evento cardiovascular [5].

Nos podemos encontrar con dos formas diferentes de clasificar a los factores de riesgo cardiovascular según sean modificables o no [6].

Los factores **no modificables** son los siguientes:

- Edad
- Sexo
- Genética

Por su parte, los factores de riesgo **modificables** son:

- Hiperlipidemia (en especial la hipercolesterolemia)
- Tabaquismo
- Diabetes mellitus
- Ejercicio

Para la prevención primaria de estas enfermedades es necesario cuantificar el riesgo cardiovascular, que se refiere a “la probabilidad que tiene una persona de desarrollar enfermedad aterosclerótica en un tiempo definido” [7].

Este riesgo cardiovascular no solamente se puede estimar a través de los factores de riesgo cardiovasculares sino también a través de la presencia de biomarcadores.

### **2.3 Biomarcadores**

#### ***Definición***

En el año 2001, el National Institutes of Health (NIH), estableció la definición de biomarcador como *una característica objetivamente medida y evaluada como indicador de procesos normales o patológicos, o una respuesta farmacológica a una intervención terapéutica.*

Puede ser una sustancia bioquímica a partir de una muestra biológica o un registro (presión arterial, electrocardiograma, Holter) o un examen de imagen (ecocardiografía, tomografía computarizada).

Un biomarcador permite conocer y estratificar el riesgo, conocer la progresión de la enfermedad, así como el estado del paciente en cuanto a la clínica gracias a su capacidad para poder ser medido de manera objetiva [8].

Nos podemos encontrar con **tres tipos** de biomarcadores: [9]

- Screening: permiten identificar a los pacientes vulnerables
- Pronóstico/tratamiento
- Diagnóstico: nos permiten identificar el daño.

Las **características** que debe tener un biomarcador son distintas en función del **uso** que se pretende que tenga dicho biomarcador:

Diagnóstico	Pronóstico	Screening
Económico	Alta especificidad	Alta sensibilidad
Alta sensibilidad	Limites de referencia conocidos	Especificidad
No presente en suero normal o tejido no cardiaco	Poca variabilidad interindividual	Valores predictivos
Larga vida media (t1/2)	Cambios en el biomarcador implica cambios en la gestión de la enfermedad (afecta a la elección de fármacos y a cambios en la dosis)	Económico
Proporcional a la extensión de la enfermedad		Alto índice de verosimilitud
Alta especificidad por el tejido (miocardio)		

**Tabla 1. Características de biomarcadores**

## 2.4 Biomarcadores clásicos

### Biomarcadores de lesión miocárdica

- **Troponinas cardiacas (cTn):** se trata de un complejo proteico formado por tres subunidades, la T, la I y la C. Las subunidades T e I son utilizadas como biomarcadores de lesión miocárdica.

Cuando se produce un daño en el miocardio las troponinas citosólicas alcanzan el torrente sanguíneo rápidamente y se produce un pico de troponinas plasmáticas en las primeras horas.

Las troponinas son altamente cardioespecíficas, sobre todo la subunidad I. La prolongada elevación (4-14 días) las hace un buen biomarcador en pacientes ingresados después de un IAM [10].

Son por todas estas características una de las mas utilizadas como biomarcadores de daño miocárdico.
- La **Creatina Kinasa:** la creatina-kinasa consta de 3 isoenzimas: CKBB, CKMB, CKMM. La que se encuentra en mayor proporción en el miocardio es CK-MB por lo que se ha utilizado como biomarcador en pacientes con sospecha de infarto agudo de miocardio (IAM). La cinética plasmática de la misma proporciona información útil con respecto a la extensión y el tiempo de inicio de este, generándose el pico a las 16-20 horas. También tiene valor predictivo en pacientes con angina inestable. Sin embargo, este biomarcador tiene limitaciones como por ejemplo que no es exclusiva del músculo cardiaco. También se eleva cuando hay daño en el músculo esquelético [10].
- **Mioglobina** estamos ante un biomarcador que se puede utilizar como diagnóstico de daño miocárdico. Sin embargo, no es específico del corazón lo que limita bastante su uso. Se libera muy rápidamente al torrente sanguíneo, incluso más que las dos anteriores. Todo esto hace que sea de utilidad cuando sus valores son negativos puesto que permite descartar un infarto agudo de miocardio (IAM)[11].

- **Lactato deshidrogenasa (LDH):** al igual que la mioglobina, esta molécula no es específica del corazón, lo que limita por tanto su utilidad como biomarcador pronóstico y/o diagnóstico de daño miocárdico. Al aparecer tarde en sangre, puede ayudar a un diagnóstico tardío de un síndrome coronario agudo [11].

#### Biomarcadores de inflamación

La inflamación es un proceso clave en el inicio, desarrollo y progresión de la aterogénesis. En placas avanzadas, se ha descrito como placas más inestables, vulnerables y más susceptibles de sufrir una rotura y desencadenar el evento agudo, presentan un mayor contenido inflamatorio [12]. Es por ello por lo que numerosos biomarcadores del proceso inflamatorio pueden servir para el pronóstico y diagnóstico de enfermedades cardiovasculares.

- **Proteína-C reactiva (PCR):** la concentración de este biomarcador aumenta muy rápidamente e incluso cuando solamente existe sintomatología. Su inconveniente es que su concentración también se puede elevar en otras situaciones inflamatorias que no sean cardíacas. Aún así es uno de los marcadores más empleados para diagnosticar, y también en el pronóstico de enfermedades cardiovasculares [11].
- **Marcadores lipídicos:** como por ejemplo las **LDL (low density lipoproteins)**. Estas moléculas son transportadores de colesterol y son propensas a oxidarse y acumularse en el interior del endotelio. Altos niveles de estas moléculas pueden correlacionarse con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular y por tanto sería como biomarcadores pronósticos. Por otro lado, nos encontramos con las **HDL (High Density Lipoproteins)**, que son las responsables del transporte reverso del colesterol. Así niveles elevados de HDL se consideran cardioprotectores [11].
- **Mieloperoxidasa (MPO):** se trata de una enzima que se encuentra principalmente en el interior de fagocitos y cuya función es catalizar la reacción de conversión del peróxido de oxígeno y del ion cloruro a ácido hipocloroso. Esta reacción va a provocar un daño oxidativo en las células que finalizará con la formación de las células espumosas y por tanto favorecerá la desestabilización de la placa y se puede considerar por tanto un biomarcador no solo de inflamación sino de placa inestable [13].
- **sCD40L:** se sabe que el ligando CD40 al unirse a su receptor en las células endoteliales genera efectos proinflamatorios y además tiene efectos sobre la coagulación. Esta unión hace que se liberen diferentes moléculas como son las metaloproteasas que degradan el colágeno favoreciendo la desestabilización de la placa aterosclerótica [14].

#### Biomarcadores de disfunción cardíaca o estrés de miocitos

- **Péptidos natriuréticos:** se tratan de hormonas que se sintetizan principalmente en los miocitos. Se libera cuando hay estrés hemodinámico. Los niveles de éstos son un buen predictor de supervivencia en pacientes con un fallo cardíaco agudo descompensado. Por otro lado, parecen ser útiles en el diagnóstico y en la estratificación del riesgo en pacientes con fallo cardíaco crónico. También son útiles en el cribado de sujetos asintomáticos en riesgo de desarrollar fallo cardíaco [15].

## 2.5 Nuevos biomarcadores

En los últimos años se han ido descubriendo nuevos biomarcadores, que, junto a los ya conocidos, nos permitirán en un futuro un rápido reconocimiento o estratificación del riesgo de un individuo a sufrir un evento cardiovascular, así como a establecer el tratamiento adecuado.

Entre estos nuevos biomarcadores se encuentran:

- miRNAS
- MPs: micropartículas

### 2.5.1 *Micro-RNAs*

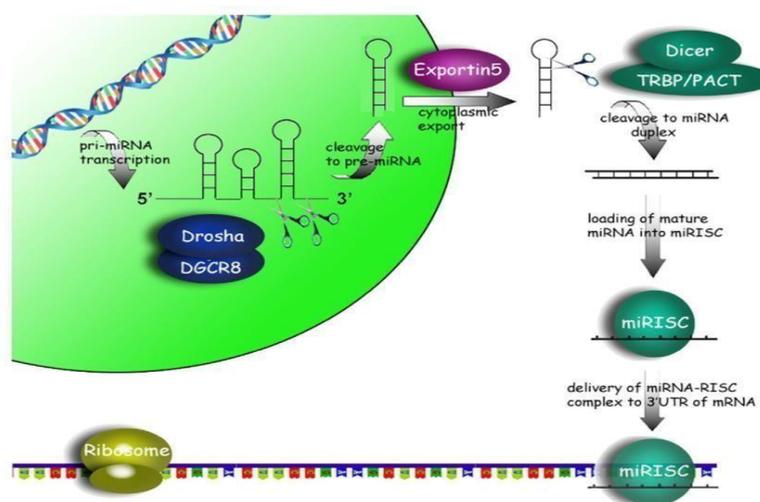
#### **Definición**

Los microRNAs o miRNAs se tratan de unas moléculas de RNA no codificantes y cortas (aproximadamente 22 nucleótidos) [16].

Los miRNAs van a regular la expresión génica a nivel post-transcripcional. Esto lo pueden hacer en dos mecanismos diferentes en función del grado de complementariedad con el RNA mensajero o en función del número y accesibilidad de los sitios de unión[16]:

- Inhibiendo la traducción
- Induciendo la degradación del mRNA.

#### **Biogénesis de los miRNAs**



**Figura 1.** Diagrama esquemático de la vía de síntesis canónica de los miRNA. Adaptado de Lawrie, CH (2007) Br J Haematol 136 (6): 503-512.

Los miRNA son transcritos dando lugar a los miRNA primarios conocidos como pri-microRNAs por una RNA polimerasa tipo II.

Estos pri-miRNAs sufren en el núcleo una escisión por Drosha, una RNAasa tipo III para formar unas estructuras de unos 60-110 nucleótidos en forma de horquilla conocidas como pre-microRNAs, con la ayuda del cofactor DGCR8.

Estos pre-miRNAs son exportados del núcleo al citoplasma por Exportina-5.

El pre-miRNA, ahora citoplasmático, sufre una escisión por Dicer, otra RNA tipo III para formar un intermediario de doble cadena que consiste en una secuencia de miRNA madura y una cadena pasajera antisentido. Dicer necesita los cofactores TRBP (del inglés, *TAR RNA-binding protein*) y PACT (del inglés *protein kinaseinterferon-inducible doubled stranded RNA dependent activator*)

El dúplex anterior es incorporado al complejo miRISC donde la cadena que será la madura es retenida por el complejo y la cadena pasajera se cree que es degradada por una nucleasa.

El complejo miRISC es guiado por la secuencia de miRNA hacia la secuencia complementaria del mRNA diana.

Esta es la vía de síntesis de miRNAs mayoritaria en animales y se conoce como vía canónica. Sin embargo, existe otra vía minoritaria conocida como no canónica [17].

### 2.5.2 Micropartículas

#### **Definición**

Las micropartículas se definen como estructuras similares a vesículas derivadas de la membrana celular que se liberan al espacio extracelular tras la activación o apoptosis de las células que las originan. Estas micropartículas tienen un tamaño de aproximadamente 0,1-1.0  $\mu\text{m}$  [25].

Las micropartículas contienen en su interior material citoplasmático de la célula como, por ejemplo, proteínas, mRNA, y lipoproteínas, que será importante a la hora de identificarlas [26].

La **formación** de las micropartículas no está del todo esclarecida, pero se cree que existen dos factores importantes en su proceso de síntesis:

1. La desorganización del citoesqueleto de la célula [25].
2. La pérdida de la asimetría de fosfolípidos en la membrana celular con la expresión de fosfatidilserina en su parte externa [27].

Nos encontramos con **tres tipos** de micropartículas principalmente:

- **PMP**, del inglés *platalet microparticles*

- **EMP**, del inglés *endothelialmicroparticles*
- **MMP**, del inglés *monocytemicroparticles*

Las micropartículas derivadas de plaquetas o PMP, son las que se encuentran en mayor proporción en el plasma, mientras que las micropartículas endoteliales o EMP corresponde a una menor población en plasma. Por otro lado, las MMP son micropartículas originadas a partir de la apoptosis o activación de los monocitos [26].

### **3. OBJETIVOS**

El objetivo de este trabajo es, mediante una detallada revisión bibliográfica, analizar la posibilidad que tienen los nuevos biomarcadores que están en investigación de servir para el diagnóstico y pronóstico de las enfermedades cardiovasculares.

Paralelo, nos hemos centrado en aquellos biomarcadores de los que hoy en día hay una mayor investigación como son los micro-RNAs y las micropartículas.

### **4. METODOLOGÍA**

Para llevar a cabo este trabajo se realizó una búsqueda bibliográfica de los principales biomarcadores cardiovasculares que se utilizan hoy en día, así como diversos estudios de investigación de nuevos biomarcadores como los micro-RNAs y las micropartículas. La información se ha obtenido de diversas bases de datos como Pubmed, Google académico, biblioteca UCM (Universidad Complutense de Madrid) entre otros buscadores de artículos online.

También se han utilizado paginas web oficiales como la Asociación Española de Cardiología, Fundación Española del Corazón, National Institutes of Health (NIH) y la página web de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

### **5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **5.1 MicroRNAs**

##### ***Los miRNAs como nuevos biomarcadores***

Nos podemos encontrar con dos tipos de miRNA: los **intracelulares** y los **circulantes**.

Estos últimos provienen de células sanguíneas y de varios tejidos diferentes como pulmón, corazón, hígado y riñones. A diferencia de los miRNA intracelulares, los miRNA circulantes muestran una remarcada estabilidad y resistencia a la degradación por la actividad de RNAsas endógenas, debido a que se cree que residen en microvesículas incluyendo exosomas, micropartículas y cuerpos apoptóticos, los cuales les protegen de la actividad RNasa [16].

Esta estabilidad de los miRNAs circulantes hace que se puedan detectar de forma fácil en muestras biológicas de sangre (plasma/suero) u orina de una manera mínimamente invasiva [18].

Esto hace posible su detección por diversos métodos como son la PCR a tiempo real, que permite la detección de muy bajas concentraciones de miRNAs. Otros métodos como microarrays también son utilizados, así como métodos de hibridación *in situ* (FISH) [19].

También la relativa alta estabilidad de miRNA en tejidos y biofluidos (por ejemplo, plasma, suero, orina, saliva, etc.) han posicionado la cuantificación de miRNA como una nueva herramienta prometedora para una amplia gama de aplicaciones de diagnóstico. Se ha demostrado que los miRNAs del plasma se mantienen estables aún sometidos a ciertas condiciones que, normalmente degradan a los RNAs, como ebullición, niveles de pH muy bajos o altos, almacenamiento prolongado y 10 ciclos de congelación-descongelación [20].

### **Los miRNAs en enfermedades cardiovasculares (ECV)**

Debido a la participación de los microRNAs como reguladores en numerosas vías metabólicas, su relevancia a nivel clínico se hace cada vez más importante [21].

Como ya se ha mencionado, la aterosclerosis se inicia cuando se produce un daño y activación del endotelio, lo cual conduce a diversos procesos como la infiltración y/o proliferación de las células endoteliales y de las células de músculo liso vascular (VSMC), apoptosis de células endoteliales, presencia de otras células inflamatorias en la pared de los vasos sanguíneos, entre otros, que conduce a un proceso inflamatorio que finalizará al final a la formación de la placa aterosclerótica.

La aterosclerosis es, por tanto, uno de los principales factores subyacentes de las enfermedades cardiovasculares, y por ello describiremos los principales miRNAs que están involucrados en dicho proceso.

Los miRNAs pueden ser significativos en la desregulación que afecta a la integridad del endotelio, la función del músculo liso vascular y células inflamatorias, así como a la homeostasis celular del colesterol que conduce al inicio y crecimiento de la placa de ateroma [22].

#### ▪ **miRNAs en el endotelio:**

##### ○ **Migración y proliferación**

La migración y proliferación de células endoteliales son procesos críticos en el desarrollo de aterosclerosis.

Nos encontramos con miRNA que **inhiben** ambos procesos, como **miR-152** y otros que **favorecen** como **miR-135b-5p** y **miR-499-3p**.

Por otro lado, miR-21 inhibe la proliferación de las células endoteliales y miR-126-5p y miR-495 la activa.

MiR-155, miR-221 y miR-222 inhiben la migración de células endoteliales y miR.150 la favorece [23].

- **Senescencia**

El envejecimiento vascular está íntimamente relacionado con alteraciones en los procesos biomecánicos y estructurales de las células endoteliales.

Estas alteraciones en las células endoteliales, debido al envejecimiento, están relacionadas con aterosclerosis incluyendo factores que favorecen la aterogénesis, como son la disfunción endotelial y un incremento de la respuesta inflamatoria.

Algunos miRNA, incluyendo **miR-217, miR-30, miR-146a, miR3-4a**, entre otros, juegan papeles importantes en el envejecimiento del endotelio favoreciendo la senescencia de este [22].

- **Apoptosis de células endoteliales**

La apoptosis de células endoteliales juega un papel muy importante en el inicio y progresión del desarrollo de la lesión aterosclerótica.

Evidencias sugieren que numerosos miRNA están implicados en mecanismos regulatorios de la apoptosis de las células endoteliales, tanto con efectos anti-apoptóticos, por ejemplo, **miR-132**, como pro-apoptóticos donde destaca **miR-495** [22].

- **miRNAs y células de músculo liso vascular (VSMC)**

- **Diferenciación, proliferación y migración de células de músculo liso vascular**

Estas células son el tipo celular mas abundante en el interior de la pared arterial y están involucradas en el desarrollo del proceso aterosclerótico.

Ciertos procesos como puede ser la apoptosis de las células endoteliales, entre otros, pueden favorecer la migración de estas células desde la capa media de los vasos hasta la capa íntima, donde pueden proliferar favoreciendo la formación de la capa neointima y la placa, contribuyendo a la progresión de la aterosclerosis [24].

Algunos miRNAs que **favorecen** la diferenciación de VSCMs son **miR-663, miR-23b, miR-18a-5p**.

Otros que la **inhiben** son **miR-26a, miR-143, miR-145** [23].

- **miRNAs, monocitos/macrófagos e inflamación**

Como ya se ha mencionado, la aterosclerosis es un proceso inflamatorio crónico y por ello células inflamatorias como los monocitos y macrófagos juegan un papel esencial en el desarrollo de la placa aterosclerótica.

- **miRNAs que regulan la diferenciación de los monocitos**

Un gran número de miRNAs pueden **favorecer** la diferenciación de los monocitos, por ejemplo, **miR-155**, **miR-222**, **miR-424**, **miR-503**, **miR-199a-5p** [23].

○ **miRNAs y respuesta inflamatoria mediada por macrófagos**

La evidencia de que algunos miRNA están asociados con la respuesta inflamatoria mediada por macrófagos es cada vez más creciente. Por ejemplo, se está estudiando la relación entre **miR-155** y dicho proceso inflamatorio. Otros miRNA que se conoce que pueden ser **reguladores positivos** de esta respuesta inflamatoria mediada por macrófagos son **miR-342-5p** y **miRNA-382-5p**. Otros se conoce que la **inhiben** como **miR-146**, **miR-21**, **miR-590** y **miR-124a** [23].

▪ **miRNAs en la homeostasis y regulación del metabolismo del colesterol**

Uno de los factores que contribuye a la progresión y a la inestabilidad de la placa aterosclerótica es su contenido en colesterol.

Se han encontrado diferentes microRNAs relacionados con el metabolismo del colesterol y que pueden servir como herramientas diagnósticas o terapéuticas del proceso aterosclerótico. Por ejemplo, **miR-122** disminuye el colesterol plasmático. **miR-185** se conoce que disminuye la síntesis de *novo* del colesterol actuando sobre varias vías metabólicas del mismo incluyendo el receptor de las LDL. **miR-27** puede favorecer este proceso aterosclerótico al aumentar el colesterol plasmático por inhibición del receptor LDL. También se cree que disminuye la captación de colesterol a nivel intracelular [24].

Con respecto a la homeostasis del colesterol, **miRNAs-33a/b** se cree que son reguladores clave de esta y por tanto pueden favorecer el desarrollo de la placa aterosclerótica [22].

miRNA	Función	Referencia
<b>miR-152</b>	Inhibir proliferación y migración de EC	[23]
<b>miR-135b-5p; miR-499-3p</b>	Favorecer proliferación y migración de EC	[23]
<b>miR-155; miR-221; miR-222</b>	Inhibir la migración de EC	[23]
<b>miR-150</b>	Favorecer migración de EC	[23]
<b>miR-217; miR-30; miR-146a; miR-3-4a</b>	Senescencia del endotelio	[22]
<b>miR-132</b>	Efecto anti-apoptótico de las EC	[22]
<b>miR-495</b>	Efecto pro-apoptótico de las EC	[22]
<b>miR-663; miR-23b; miR-18a-5p</b>	Favorecer diferenciación de VSMCs	[24]

<b>miR-26a; miR-143; miR-145</b>	Inhibir diferenciación de VMSCs	[24]
<b>miR-155; miR-222; miR-424; miR-503; miR-199a-5p</b>	Favorecer diferenciación de monocitos	[23]
<b>miR-146; miR-21; miR-590; miR-124a</b>	Reguladores negativos de la respuesta inflamatoria	[23]
<b>miR-342-5p; miR-382-5p</b>	Reguladores positivos de la respuesta inflamatoria	[23]

**Tabla 2. miRNAs implicados en el proceso aterosclerótico**

## **5.2 Micropartículas (MPs)**

### ***Las micropartículas como nuevos biomarcadores***

Se han detectado elevados niveles de MPs en personas bajo ciertos estados patológicos tales como aterosclerosis, síndrome coronario agudo, sepsis y diabetes. Todas estas patologías implican un proceso inflamatorio y están asociadas a una disfunción vascular. Se cree que las MPs son responsables de la activación de genes inflamatorios responsables de la liberación de citoquinas que estarán implicadas en la formación de las patologías anteriormente mencionadas [28].

Por lo tanto, la identificación de estas micropartículas, puede ser una herramienta útil en la detección de enfermedades cardiovasculares debido a la implicación de estas en procesos inflamatorios.

La identificación y medida de las MPs se lleva a cabo principalmente mediante citometría de flujo a partir de una muestra de sangre [29].

### ***Micropartículas y enfermedades cardiovasculares***

Las MPs pueden participar e iniciar un proceso inflamatorio.

Un estudio realizado por Patel et al., ha demostrado que las células endoteliales tratadas con t-butilhidroxiperóxido liberaban vesículas que contenían agonistas de neutrófilos. Es decir, liberaban **EMPs** que contenían sustancias capaces de activar a neutrófilos y que posteriormente causarían que estos se adhirieran y migraran a la pared vascular [30].

Evidencias experimentales muestran comolas EMPs producen especies reactivas de oxígeno, ROS, en el endotelio [31] lo cual favorece el estrés oxidativo clásico de la aterosclerosis.

La cadherina vascular endotelial (VE)-cadherin o también conocida como CD-144, se trata de una molécula de adhesión endotelial muy importante para la regulación de procesos como la proliferación y apoptosis celular y la modulación de las funciones del receptor del factor de crecimiento endotelial [32], todos ellos procesos que favorecen la aterosclerosis.

Un estudio realizado por Hidenobu Koga et al., demuestra como las EMPs de las que contienen CD-144 están relacionadas con disfunción y daño endotelial. Se ha demostrado como en pacientes con diabetes mellitus y síndrome coronario agudo tienen mayores niveles de estas micropartículas en comparación con sujetos que sufren diabetes mellitus sin síndrome coronario agudo [33].

Todos estos procesos son clave en el inicio o progresión de la aterosclerosis.

La exposición al humo del tabaco incrementa la posibilidad de sufrir un evento aterosclerótico, entre otros.

Se ha demostrado que la exposición al tabaco es un factor importante en la liberación de **micropartículas a partir de monocitos (MMPs)**. Estas micropartículas tienen una alta capacidad pro-coagulante que involucra una vía de señalización extracelular denominada ERK. La activación de esta vía se cree que provoca lamigración y proliferación de las células de músculo liso vascular, lo cual es un evento importante en la progresión de la placa aterosclerótica [34].

A su vez, esta actividad pro-coagulante de las EMPs va a dar lugar a una mayor disfunción endotelial y por tanto, también favorece la progresión de la aterosclerosis.

También, se ha demostrado como estas MMPs inducen la expresión de la óxido nítrico sintasa (iNOS) lo que va a provocar una sobreproducción de óxido nítrico [31]. La sobreestimulación de la iNOS juega un papel muy importante en la inflamación vascular al generar una gran cantidad de óxido nítrico, lo que acabará favoreciendo la disfunción del endotelio.

Por su parte, las **PMPs** se liberan principalmente debido a la activación de las plaquetas. La activación se produce gracias a la acción de agonistas como colágeno, trombina, lipopolisacáridos, virus, entre otros [35].

La neovascularización se cree que es un proceso importante en el desarrollo de aterosclerosis y por tanto la angiogénesis adquiere una gran relevancia [36].

Existen evidencias de que las PMPs están relacionadas con la angiogénesis dado el papel que tienen las plaquetas en dicho proceso al liberar factores que promueven el crecimiento de los vasos sanguíneos. Esta tarea también puede ser realizada por las micropartículas liberadas por las plaquetas. Se ha visto que pueden liberar en el endotelio factores de crecimiento vascular como VEGF y por tanto van a favorecer también la formación de la placa aterosclerótica [37].

Por otro lado, evidencias clínicas y experimentales muestran que la ciclooxigenasa 2 (COX-2), una enzima que cataliza la generación de prostaglandinas a partir del ácido araquidónico, también contribuye al desarrollo de aterosclerosis [38].

Un estudio demuestra como las PMPs contienen ácido araquidónico induciendo la expresión de la COX-2, que dará lugar a la formación de prostaglandinas inflamatorias que intervendrán en el proceso aterosclerótico [39].

Se conoce que la adhesión de los monocitos al endotelio disfuncional y su posterior migración a través del mismo, convirtiéndose posteriormente en macrófagos, es un proceso esencial en el desarrollo aterosclerótico. Evidencias, muestran que las PMPs promueven la adhesión de los monocitos al endotelio [40].

Micropartícula	Función en aterosclerosis	Referencia
PMP	Favorece angiogénesis	[37]
	Induce expresión de COX-2	[38]
	Favorece adhesión de monocitos al endotelio vascular	[40]
MMP	Activación vía ERK	[34]
	Acción pro-coagulante	[34]
	Expresión iNOS	[31]
EMP	Activación de neutrófilos	[30]
	Síntesis de ROS	[31]
	Contiene CD-144 favoreciendo la disfunción endotelial	[33]

**Tabla 3. Papel de las MPs en la aterosclerosis**

## 6. CONCLUSIÓN

La investigación de nuevos biomarcadores para poder aplicarlos a la práctica clínica se está haciendo cada vez mas relevante.

El descubrimiento de biomarcadores como los micro-RNAs y las micropartículas nos está permitiendo no solo entender mejor la patogénesis de enfermedades como la aterosclerosis si no poder, en un futuro, hacer un pronóstico y diagnóstico rápido de las mismas y descubrir dianas terapéuticas más eficaces.

Los miRNA pueden llegar a ser una excelente herramienta diagnóstica y pronóstica gracias a sus características de especificidad y de gran estabilidad en los distintos fluidos biológicos, así como la gran capacidad de ser medidos por técnicas analíticas ya existentes.

Por su parte, las micropartículas, aunque no todos los estudios y ensayos son concluyentes pueden llegar a ser también excelentes métodos de diagnóstico de enfermedades cardiovasculares.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

[1] Li, Y. R. (2015). *Cardiovascular diseases: From molecular pharmacology to evidence- based therapeutics*. Recuperado de: <https://ebookcentral.proquest.com>

[2] Las cifras de la enfermedad cardiovascular. (2020). Recuperado 29 de marzo de 2020, de Fundación del corazón website: <https://fundaciondelcorazon.com/blog-impulso-vital/3264-las-cifras-de-la-enfermedad-cardiovascular.html>

- [3] **Lahoz, C., & Mostaza, J. M.** (2007). La aterosclerosis como enfermedad sistémica. *Revista Española de Cardiología*, 60(2), 184–195. <https://doi.org/10.1157/13099465>
- [4] **Gelpi, R. J., & Donato, M.** (2010). *Fisiopatología cardiovascular: Bases racionales para la terapéutica*. Recuperado de: <https://ebookcentral.proquest.com>
- [5] **Martín-Ventura, J. L., Blanco-Colio, L. M., Tuñón, J., Muñoz-García, B., Madrigal-Matute, J., Moreno, J. A., Egido, J.** (2009). Biomarkers in Cardiovascular Medicine. *Revista Española de Cardiología*, 62(6), 677–688. [https://doi.org/10.1016/S0300-8932\(09\)71335-1](https://doi.org/10.1016/S0300-8932(09)71335-1)
- [6] **Saturno, C. G.** (2017). *Cardiología*, 247-258. Recuperado de <https://ebookcentral.proquest.com>
- [7] **Juárez, V. M. Á.** (2018). *El abc de la cardiología 2018*, 97-106. Recuperado de <https://ebookcentral.proquest.com>
- [8] **Mark Richards, A.** (2010). Nuevos biomarcadores en la insuficiencia cardiaca: aplicaciones en el diagnóstico, pronóstico y pautas de tratamiento. *Revista Española de Cardiología*, 63(6), 635-639. doi:10.1016/S0300-8932(10)70155-X Recuperado de <https://www.clinicalkey.es/playcontent/1-s2.0-S030089321070155X>
- [9] **Vasan, R. S.** (2006, May). Biomarkers of cardiovascular disease: Molecular basis and practical considerations. *Circulation*. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.104.482570>
- [10] **Nigam, P. K.** (2007). Biochemical markers of myocardial injury. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 22(1), 10–17. <https://doi.org/10.1007/BF02912874>
- [11] *Libro de la salud cardiovascular del Hospital Clínico San Carlos y la Fundación BBVA.* (2007) (p. 696). Fundación BBVA. Recuperado de <https://books.google.com/books?id=O2XEpDdesrAC&pgis=1>
- [12] **Martín-Ventura JL, Blanco-Colio LM, Muñoz-García B, Gómez-Hernández A, Arribas A, Ortega L, Tuñón J, Egido J.** NF-kappaB activation and Fas ligand overexpression in blood and plaques of patients with carotid atherosclerosis: potential implication in plaque instability. *Stroke*. 2004 Feb;35(2):458-63. doi: 10.1161/01.STR.0000114876.51656.7A
- [13] **Sugiyama, S., Okada, Y., Sukhova, G. K., Virmani, R., Heinecke, J. W., & Libby, P.** (2001). Macrophage myeloperoxidase regulation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human atherosclerosis and implications in acute coronary syndromes. *The American Journal of Pathology*, 158(3), 879-891. doi:10.1016/S0002-9440(10)64036-9

- [14] **Schonbeck, U., & Libby, P.** (2001). CD40 signaling and plaque instability. *Circulation Research*, 89(12), 1092-1103. doi:10.1161/hh2401.101272
- [15] **Braunwald, E.** (2008, May 15). Medical progress: Biomarkers in heart failure. *New England Journal of Medicine*. Massachusetts Medical Society. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0800239>
- [16] **Zhou, S. S., Jin, J. P., Wang, J. Q., Zhang, Z. G., Freedman, J. H., Zheng, Y., & Cai, L.** (2018, July 1). MiRNAs in cardiovascular diseases: Potential biomarkers, therapeutic targets and challenges review-article. *Acta Pharmacologica Sinica*. Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/aps.2018.30>
- [17] **Lawrie, C. H.** (Ed.). (2014). *Micrnas in medicine*. Recuperado de <http://ebookcentral.proquest.com>
- [18] **Pritchard, C. C., Cheng, H. H., & Tewari, M.** (2012). MicroRNA profiling: approaches and considerations. *Nature reviews. Genetics*, 13(5), 358–369. <https://doi.org/10.1038/nrg3198>
- [19] **Shoeibi S.** (2020). Diagnostic and theranostic microRNAs in the pathogenesis of atherosclerosis. *Acta physiologica (Oxford, England)*, 228(1), e13353. <https://doi.org/10.1111/apha.13353>
- [20] **Calin, G. A., Ferdin, J., Cortez, M. A., Bueso-Ramos, C., Lopez-Berestein, G., & Sood, A. K.** (2011). MicroRNAs in body fluids-the mix of hormones and biomarkers. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 8(8), 467-477. doi:10.1038/nrclinonc.2011.76
- [21] **Zampetaki, A., & Mayr, M.** (2012). MicroRNAs in vascular and metabolic disease. *Circulation Research*, 110(3), 508-522. doi:10.1161/CIRCRESAHA.111.247445
- [22] **Churov, A., Summerhill, V., Grechko, A., Orekhova, V., & Orekhov, A.** (2019). MicroRNAs as potential biomarkers in atherosclerosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(22). <https://doi.org/10.3390/ijms20225547>
- [23] **Gao, Y., Peng, J., Ren, Z., He, N. ya, Li, Q., Zhao, X. shan, ... Liu, L. shan.** (2016, September 1). Functional regulatory roles of microRNAs in atherosclerosis. *Clinica Chimica Acta*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2016.06.044>
- [24] **Solly, Emma L; Dimasi, Catherine G; Bursill, Christina A; Psaltis, Peter J; Tan, Joanne TM;** (2019, December 13). MicroRNAs as Therapeutic Targets and Clinical Biomarkers in Atherosclerosis. *Journal of Clinical Biomarkers in Atherosclerosis*. *Journal of Clinical Medicine*. <http://doi.org/10.3390/jcm8122199>

- [25] **VanWijk, M. J., VanBavel, E., Sturk, A., & Nieuwland, R.** (2003b). Microparticles in cardiovascular diseases. *Cardiovascular Research*, 59(2), 277-287. doi:10.1016/S0008-6363(03)00367-5
- [26] **França, C. N., Izar, Maria Cristina de Oliveira, Amaral, J. B. d., Tegani, D. M., & Fonseca, F. A. H.** (2015). Microparticles as potential biomarkers of cardiovascular disease. *Arquivos Brasileiros De Cardiologia*, 104(2), 169-174. doi:10.5935/abc.20140210
- [27] **Faure, V., Dou, L., Sabatier, F., Cerini, C., Sampol, J., Berland, Y., Dignat-George, F.** (2006). Elevation of circulating endothelial microparticles in patients with chronic renal failure. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 4(3), 566-573. doi:10.1111/j.1538-7836.2005.01780.x
- [28] **Tesse, A., Martínez, M., Hugel, B., Chalupsky, K., Muller, C., Meziani, F., . . . Andriantsitohaina, R.** (2005). Upregulation of proinflammatory proteins through NF- $\kappa$ B pathway by shed membrane microparticles results in vascular hyporeactivity. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 25(12), 2522-2527. doi:10.1161/01.ATV.0000189298.62240.5d
- [29] **Dey-Hazra, E., Hertel, B., Kirsch, T., Woywodt, A., Lovric, S., Haller, H., . . . Erdbruegger, U.** (2010). Detection of circulating microparticles by flowcytometry: Influence of centrifugation, filtration of buffer, and freezing. *Vascular Health and Risk Management*, 6, 1125-1133. doi:10.2147/VHRM.S13236
- [30] **Kamala D. Patel, Guy A. Zimmerman, Stephen M. Prescott & Thomas M. McIntyre.** (1992). Novel leukocyte agonists are released by endothelial cells exposed to peroxide. *The Journal of Biological Chemistry*, 267(21), 15168-15175. Recuperado de <https://search.proquest.com/docview/73083193>
- [31] **Julie Gauley, & David S. Pisetsky.** (2010). The release of microparticles by RAW 264.7 macrophage cells stimulated with TLR ligands. *Journal of Leukocyte Biology*, 87(6), 1115-1123. doi:10.1189/jlb.0709465
- [32] **Vestweber, D.** (2008). VE-cadherin: The major endothelial adhesion molecule controlling cellular junctions and blood vessel formation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 28(2), 223-232. doi:10.1161/ATVBAHA.107.158014
- [33] **Koga, H., Sugiyama, S., Kugiyama, K., Watanabe, K., Fukushima, H., Tanaka, T., Ogawa, H.** (2005). Elevated levels of VE-cadherin-positive endothelial microparticles in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 45(10), 1622-1630. doi:10.1016/j.jacc.2005.02.047
- [34] **Li, M., Yu, D., Williams, K. J., & Liu, M.** (2010). Tobacco smoke inducesthe generation of procoagulant microvesicles from human monocyte/macrophages doi:10.1161/ATVBAHA.110.209577

- [35] **Boilard, E., Duchez, A., & Brisson, A.** (2015). The diversity of platelet microparticles. *Current Opinion in Hematology*, 22(5), 437-444. doi:10.1097/MOH.0000000000000166
- [36] **Barrabés, J. A., & Mirabet, M.** (2003). Neovascularización en las lesiones ateroscleróticas: ¿respuesta homeostática o mecanismo de progresión de la enfermedad? *Revista Española de Cardiología*, 56(10), 947-948. doi:10.1016/S0300-8932(03)76990-5 Recuperado de [http://dx.doi.org/10.1016/S0300-8932\(03\)76990-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0300-8932(03)76990-5)
- [37] **Radziwon-Balicka, A., Moncada de la Rosa, Cesar, & Jurasz, P.** (2012). Platelet-associated angiogenesis regulating factors: A pharmacological perspective. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 90(6), 679-688. doi:10.1139/y2012-036
- [38] **Flórez, A., de Haro, J., Martínez, E., Varela, C., Bleda, S., & Acín, F.** (2009). Selective cyclooxygenase-2 inhibition reduces endothelial dysfunction and improves inflammatory status in patients with intermittent claudication. *Revista Española De Cardiología (English Edition)*, 62(8), 851-857. doi:10.1016/S1885-5857(09)72649-0
- [39] **Barry, O. P., Pratico, D., Lawson, J. A., & FitzGerald, G. A.** (1997). Transcellular activation of platelets and endothelial cells by bioactive lipids in platelet microparticles. *The Journal of Clinical Investigation*, 99(9), 2118-2127. doi:10.1172/JCI119385
- [40] **Barry, O. P., Praticò, D., Savani, R. C., & FitzGerald, G. A.** (1998). Modulation of monocyte-endothelial cell interactions by platelet microparticles. *The Journal of Clinical Investigation*, 102(1), 136-144. doi:10.1172/JCI2592