



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO
NUEVOS MARCADORES EN ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

Autor: María Barroso Morales

Tutor: Sara Benedito Castellote

Convocatoria: Junio 2020

ÍNDICE

1. RESUMEN	2
2. INTRODUCCIÓN	2
2.1. Marcadores relativos al metabolismo lipídico	3
2.2. Marcadores relativos a la aterotrombosis e inflamación.....	4
2.3. Marcadores relativos a daño cardíaco, cicatrización y fibrosis.....	6
2.4. Marcadores relativos al estrés hemodinámico y función renal	6
3. OBJETIVOS	7
4. METODOLOGÍA.....	7
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	7
5.1. Proteína convertasa subtilisina kexina tipo 9	7
5.2. Monocitos clásicos, intermedios y no clásicos.....	9
5.3. ST2 soluble	11
5.4. MicroARN.....	12
5.4.1. MicroARN 126	12
5.4.2. MicroARN 1	13
5.4.3. MicroARN 133	14
5.4.4. MicroARN 208	15
5.4.5. MicroARN 499	16
6. CONCLUSIONES	17
7. BIBLIOGRAFÍA	18

1. RESUMEN

El uso de marcadores de riesgo transforma el diagnóstico de las enfermedades cardiovasculares (ECV), que a día de hoy, siguen resultando un desafío en el ámbito sanitario a nivel mundial. En este trabajo se describen los marcadores englobados en cuatro grandes grupos; los relacionados con el metabolismo lipídico, la aterotrombosis, la lesión cardíaca y estrés hemodinámico.

Dentro de cada apartado, se examinan los marcadores más novedosos implicados en investigaciones experimentales emergentes, entre los que se encuentran la proproteína convertasa subtilisina kexina 9, los distintos tipos de monocitos y el receptor soluble ST2, así como los microARNs, que constituyen un campo de investigación reciente que en los últimos años se ha utilizado en el diagnóstico de diversas enfermedades. En esta revisión se estudian brevemente los tipos más implicados en ECV: miR 126, miR 1, miR 133, miR 208 y miR 499.

Dentro de cada marcador se examina su estructura, su mecanismo de acción y su potencial como marcador diagnóstico con el objetivo de demostrar su implicación en patologías como la hipercolesterolemia, la hipertrofia cardíaca, el infarto agudo de miocardio (IAM) o la insuficiencia cardíaca, comparando su utilidad con otros marcadores de uso rutinario y su posible utilización en el desarrollo de nuevos fármacos para el tratamiento de las mismas.

ABSTRACT

The use of risk markers transforms the diagnosis of cardiovascular diseases (CVDs), which even nowadays are still a worldwide challenge in the healthcare sector. In this review, markers are described in four large groups, those related to lipid metabolism, atherothrombosis, cardiac injury and hemodynamic stress.

Later, within each classification, most novel markers involved in emerging experimental researches are studied, including proprotein convertase subtilisin kexine type 9, different types of monocytes and the soluble ST2 receptor, leading out to the MicroRNA's evaluation. MicroRNAs have been recently studied because of their potential use in the diagnosis of different diseases. In this paper we briefly study the most involved types in CVDs: miR 126, miR 1, miR 133, miR 208 and miR 499.

The structure of each marker is examined as its mechanism of action and its potential as diagnostic marker with the aim of demonstrate if they are involved in some pathologies like hypercholesterolemia, cardiac hypertrophy, acute myocardial infarction (AMI) or heart failure by comparing their value with other rutinary markers and their possible use on the development of new drugs in order to deal with those pathologies.

2. INTRODUCCIÓN

Las ECV son un grupo de trastornos del corazón y los vasos sanguíneos que constituyen la primera causa de muerte en el mundo. Según la organización mundial de la salud (OMS), se calcula que en 2015 murieron por esta causa 17,7 millones de personas, lo cual representa un 31% de todas las muertes registradas en el mundo. De estas muertes, 7,4 millones se debieron a una cardiopatía coronaria, y 6,7 millones, a accidentes cerebro-vasculares.

Un mecanismo subyacente común en estos dos grupos de ECV es la presencia de placas de ateroma o aterosclerosis en las arterias de ambos lechos vasculares, con la consecuente obstrucción del flujo sanguíneo e isquemia tisular.

La aterosclerosis comienza con la disfunción endotelial o daño en el endotelio vascular. En condiciones fisiológicas, el endotelio cumple funciones protectoras, manteniendo un equilibrio entre la secreción de moléculas vasodilatadoras y vasoconstrictoras. Entre las vasodilatadoras destacan el factor hiperpolarizante derivado de endotelio (EDHF), el óxido nítrico y la prostaciclina, actuando estas dos últimas también como antiagregantes plaquetarios. Entre las vasoconstrictoras y protrombóticas se encuentran la endotelina y el tromboxano.

En condiciones de disfunción endotelial se produce un desequilibrio en esta situación, de modo que se reduce la biodisponibilidad de sustancias activas vasodilatadoras de origen endotelial, lo que predispone a la inflamación, la vasoconstricción y al incremento de la permeabilidad vascular, facilitando el desarrollo de aterosclerosis, agregación plaquetaria y trombosis.

El incremento en la permeabilidad vascular, es clave para facilitar el paso de monocitos y lipoproteínas que transportan colesterol, es decir, las moléculas de LDL (lipoproteínas de baja densidad) hacia el espacio subendotelial. Una vez que estas moléculas penetran en el subendotelio y se acumulan, el sistema inmune las reconoce como un cuerpo extraño y los monocitos circulantes son atraídos hacia el subendotelio, convirtiéndose en macrófagos tisulares al entrar en la pared vascular. Las células endoteliales, las células de músculo liso vascular, los monocitos y los propios macrófagos oxidan a las LDL. Esta modificación de las LDL es la causa del comportamiento anómalo de los macrófagos, los cuales van a fagocitar sin control estas LDL oxidadas transformándose en células espumosas y constituyendo la *estría grasa* que es el primer paso en el proceso aterogénico. La placa inicial va creciendo y añadiendo elementos debido al proceso inflamatorio generado y a la activación trombogénica. En este entramado que se está formando se adhieren plaquetas, calcio y migran células musculares lisas que producen colágeno y proteoglicanos haciendo que esta placa sea cada vez más consistente y de mayor tamaño, ocluyendo progresivamente la luz vascular.

Basándonos en la patogenia que acabamos brevemente de describir de las ECV, analizaremos los principales marcadores y factores genéticos relacionados con el metabolismo lipídico, la inflamación y la aterotrombosis, así como con el daño tisular, cicatrización y fibrosis. Todo ello es necesario porque, si bien es cierto que la medicina ha avanzado a la hora de desarrollar técnicas que nos ayudan a identificar cuanto antes la aparición de la enfermedad e incluso su desarrollo, entre un 10 y un 50% de los casos de pacientes con ECV no presenta ningún factor de riesgo conocido que les predisponga a la misma (Rodríguez-Artalejo *et al.*, 2001). Así, en muchos casos, la ECV se identifica tarde, cuando se ponen de manifiesto síntomas y signos clínicos.

Debido a la alta prevalencia de estas enfermedades, y al impacto de las mismas, es fundamental la investigación de nuevos marcadores que puedan facilitar el establecimiento de un diagnóstico más rápido y directo y un correcto pronóstico.

2.1. Marcadores relativos al metabolismo lipídico

Las alteraciones del metabolismo de los lípidos se encuentran entre los factores de riesgo cardiovascular mejor conocidos desde hace décadas. Se ha demostrado firmemente el papel que juegan las LDL en cuanto a la formación de la placa de ateroma, así como el de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) como partículas anti-aterogénicas que transportan retrógradamente el colesterol hacia el hígado, retirándolo de la circulación sanguínea y evitando así que ocasione problemas al organismo.

La **lipoproteína A** es una partícula con un contenido lipídico parecido a las LDL, sintetizada por el hígado, que ha sido encontrada en lesiones ateroscleróticas y cuyos niveles plasmáticos elevados están asociados con la presencia y severidad del síndrome agudo coronario (Hoover-Plow y Huang, 2013). Se ha sugerido que podría representar un medio de transporte de las LDL a zonas de reparación de la pared arterial, aportando colesterol a los fibroblastos y permitiendo así su proliferación (Carbayo, 2012).

Además, cabe mencionar a la **fosfolipasa A2 asociada a lipoproteínas (Lp-PLA 2)**, cuya función principal es hidrolizar los fosfolípidos oxidados del colesterol-LDL, formando derivados proinflamatorios en la placa de ateroma, de ahí que esté considerada como un biomarcador inflamatorio. Es producida por los macrófagos en la pared arterial y por ello, algunos investigadores creen que es más específica para el tejido vascular que otros marcadores inflamatorios (Toth *et al.*, 2010).

Por su parte, la **fosfolipasa A2 secretora (sPLA2)**, representa, al igual que la Lp-PLA 2 un marcador de riesgo cardiovascular. Ha sido relacionada tanto con la disfunción endotelial como con la enfermedad coronaria. Hay varios mecanismos por los cuales puede estar implicada en la aterosclerosis, incluyendo la hidrólisis de LDL y HDL. Como consecuencia, se producen LDL de mayor potencial aterogénico. Con respecto a las HDL se produce un mayor catabolismo de dichas partículas, afectando a su función recolectora del colesterol (Sabán, 2017).

Recientemente, se ha descubierto el papel de la **proteína convertasa subtilisina kexina tipo 9 (PCSK9)** que promoviendo la degradación de receptores LDL, disminuye la expresión e inhibe la captación de LDL, lo que conduce a una situación de hipercolesterolemia (Leander *et al.*, 2016).

2.2. Marcadores relativos a la aterotrombosis e inflamación

La formación de un trombo se produce por activación plaquetaria. Los factores protrombóticos o antitrombóticos, son los que van a desequilibrar la balanza hacia la formación de un coágulo o, por el contrario, hacia su disolución. Los marcadores más estudiados en este área son la propia reactividad plaquetaria, el dímero D y las micropartículas derivadas de la ruptura de las plaquetas (MPP).

El **dímero D** es un producto de degradación de la fibrina, suele ser indetectable a menos que el organismo esté pasando por un proceso de formación o disolución de trombos; en tal caso, los niveles de dímero D en sangre pueden aumentar. Por ello, su determinación es una prueba diagnóstica de elección cuando se presentan signos o síntomas sugerentes de un episodio trombótico, ya sea agudo o crónico, como la trombosis venosa profunda, el tromboembolismo pulmonar o la coagulación intravascular diseminada (CID); también se utiliza para monitorizar la evolución y el tratamiento de la CID y de otras situaciones trombóticas.

Estudios recientes han demostrado que el virus SARS-Cov-2, que causa la enfermedad COVID-19, conduce frecuentemente a coagulopatías. Los niveles elevados de dímero D en los pacientes infectados se asocian con un peor pronóstico de la enfermedad (Yin *et al.*, 2020). El dímero D, en esta pandemia mundial, se ha considerado factor de riesgo asociado con la mortalidad; concretamente los niveles superiores a 1000 ng/mL se asocian con un riesgo 18 veces superior de mortalidad. De ahí que, en la actualidad, la determinación de su concentración se incluya en el *screening* de todo paciente sintomático COVID-19 positivo.

Las **MPP**, son formaciones membranosas (< 1 µm) normalmente liberadas tras la activación celular (Padró *et al.*, 2011). Existen estudios que demuestran el papel funcional de las MPP en la

trombogénesis arterial. Cuando ocurre la ruptura de la placa aterosclerótica, una compleja interacción entre plaquetas y leucocitos desencadena el desarrollo del trombo y el inicio de una inflamación sistémica (Thomas y Storey, 2015).

Se puede considerar al proceso aterosclerótico como una respuesta inflamatoria al daño endotelial.

Los marcadores más relacionados con la inflamación van a ser la **interleucina 6 (IL-6)** y la proteína C reactiva (PCR). La primera es una citoquina con acción tanto proinflamatoria como antiinflamatoria. Los efectos de la IL-6 en la inmunidad dependen del contexto y de su concentración local, así como de la presencia o ausencia de otras proteínas reguladoras que actúan en la vía de transducción de señales, o de la concentración de su receptor soluble. La IL-6 promueve la activación de células del endotelio vascular, mediante el aumento en la expresión de selectina-E, moléculas de adhesión intercelular (ICAM-1), moléculas de adhesión de las células vasculares (VCAM-1) y promueve la liberación de otros mediadores proinflamatorios por parte de dichas células (Saavedra Ramírez *et al.*, 2011). Además, la IL-6 estimula a los hepatocitos para producir un reactante de fase aguda, la **proteína C reactiva (PCR)**, considerada desde hace décadas como otro marcador inflamatorio que aumenta hasta 50.000 veces en estados inflamatorios agudos. La PCR se une a lipoproteínas alteradas y facilita su remoción por los fagocitos, además de activar parcialmente el sistema del complemento. A pesar de no ser específica, es un indicador temprano que puede orientar el diagnóstico y ayudar a establecer el riesgo cardiovascular.

El daño asociado a la estenosis de la arteria coronaria, además de provocar la liberación de citoquinas proinflamatorias, conlleva a la extravasación de neutrófilos al tejido miocárdico. Los neutrófilos fagocitan el tejido necrótico y liberan **mieloperoxidasa**. La mieloperoxidasa también es un marcador inflamatorio que se encuentra en los gránulos leucocitarios; es una enzima óxidoreductasa cuya función es catalizar la conversión de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en especies reactivas del oxígeno (ROS). Es un marcador que relaciona el estrés oxidativo, la inflamación, la disfunción endotelial y el riesgo trombogénico.

Por otro lado, el **fibrinógeno** es también una molécula esencial para la formación del coágulo sanguíneo. La concentración de esta molécula es un reflejo de la capacidad de coagulación del organismo y en 1991 se convirtió en el primer marcador sanguíneo valorado sistemáticamente como factor de riesgo vascular (Jiménez Mateos-Cáceres, 2009). Como otros biomarcadores, el fibrinógeno tiene un perfil de marcador doble, por un lado interviene en la respuesta inflamatoria y por otro, en las vías de coagulación dando lugar a disfunción endotelial y aterosclerosis (Papageorgiou *et al.*, 2017).

La **homocisteína** es otro marcador conocido como factor de riesgo desde la década de los 90, relacionado también con la presencia de enfermedad aterosclerótica y estados de hipercoagulabilidad cuando sus niveles son más altos de lo habitual (hiperhomocisteinemia). Además, este parámetro se asocia con un mayor riesgo de enfermedad coronaria en pacientes con disfunción renal crónica. La hiperhomocisteinemia puede surgir por defectos genéticos de enzimas involucradas en el metabolismo de la homocisteína o por deficiencias nutricionales de ácido fólico, vitamina B6 y B12 (Ganguly y Alam, 2015).

Por último, en este grupo de marcadores, podemos incluir los **distintos tipos de monocitos**: monocitos clásicos (**Mon1**), monocitos intermedios (**Mon2**) y monocitos no clásicos (**Mon3**). Los monocitos son colaboradores claves en la inflamación, se ha demostrado que el recuento de monocitos es un factor de riesgo independiente de ECV que puede llegar a ser más determinante que otros convencionales como la proteína C reactiva, la interleucina 6, el fibrinógeno, la hipertensión y el tabaquismo (Chapman *et al.*, 2004).

2.3. Marcadores relativos a daño cardíaco, cicatrización y fibrosis

Cuando surge un daño cardíaco tanto agudo como crónico, se deben activar procesos de remodelación cuyo fin es recuperar la integridad estructural que existía antes del daño. Se trata de mecanismos muy complejos ya que debe haber un equilibrio entre recuperar la integridad estructural y que la función miocárdica no se vea dañada por culpa de estos procesos de reparación de tejidos.

En este grupo, vamos a describir una familia de marcadores liderada por el **factor de crecimiento transformante beta** (TGF- β): TGF- β , GDF-15, MMP-9, galectina 3 y receptor ST2 soluble.

El **TGF- β** es producido por linfocitos, monocitos, macrófagos y plaquetas. En general, la liberación y activación del TGF- β estimula la producción de proteínas de la matriz extracelular e inhibe la degradación de estas mismas proteínas. Estas acciones contribuyen a la reparación de tejido, que bajo circunstancias ideales, conduce a una restauración de la estructura del mismo, pero que también en muchos casos, contribuye a un exceso patológico de tejido fibrótico, que repercute en la función orgánica (Branton y Kopp, 1999).

El **GDF-15** o **factor de diferenciación del crecimiento** es una citocina secretada por los macrófagos y los cardiomiocitos en respuesta al estrés oxidativo y la inflamación (Bootcov *et al.*, 1997). Como puede ser producido por varios tipos de células cardiovasculares y no cardiovasculares, los niveles de GDF-15 integran información procedente de distintas vías, tanto cardíacas como extracardíacas. Este miembro de la superfamilia del TGF- β aumenta en procesos de estrés oxidativo. Como el GDF-15 presenta funciones cardioprotectoras, como por ejemplo proteger al corazón de la lesión por isquemia-reperusión, los niveles más altos de GDF-15 reflejarían una respuesta de adaptación (Kempf *et al.*, 2006).

Los neutrófilos y macrófagos liberan MMPs, que son **metaloproteinasas de la matriz**, como la **MMP9**, la cual degrada componentes de la matriz extracelular y está regulada por comunicación cruzada con el TGF- β . Además, degrada citoquinas y patrones moleculares asociados a daño (DAMPs), lo que limita la inflamación. La MMP9 es necesaria para iniciar la actividad del TGF- β .

Para la activación del TGF- β , además de las metaloproteinasas, se requiere la actuación de la proteína Gal-3 o **galectina 3** que induce la activación de miofibroblastos y la expresión de procolágeno.

Por último, en este grupo se encuentra el **ST2 soluble**. El ST2 soluble pertenece, junto con el ST2 ligando, a una familia de receptores de IL-1. Específicamente es un receptor de la IL-33, que presenta funciones cardioprotectoras. Múltiples investigaciones dotan a este receptor soluble de un alto valor predictivo en ECV como infarto agudo de miocardio e insuficiencia cardíaca aguda y crónica.

2.4. Marcadores relativos al estrés hemodinámico y función renal

En este grupo, destacan los péptidos natriuréticos A y B (ANP y BNP). Los péptidos natriuréticos constituyen una familia de péptidos con acciones importantes en el mantenimiento de la homeostasis cardiovascular, regulando la presión arterial y el volumen del fluido extracelular. Son liberados en respuesta a la dilatación miocárdica y ambos son indicativos de fallo cardíaco. No vamos a tratarlos como marcadores de riesgo cardiovascular como tal, ya que nos avisan de la enfermedad cuando ésta ya se ha producido. A pesar de ello, son útiles para averiguar la gravedad del daño cardíaco y para plantear distintos tratamientos.

Los marcadores más innovadores son el **NT-pro-BNP** o porción N-terminal del pro-péptido natriurético tipo B y el **MR-proANP** o región media del propéptido natriurético auricular. Ambos son marcadores estables de la liberación de BNP o ANP, los cuales inducen diuresis, natriuresis e inhibición del sistema renina-angiotensina-aldosterona y, el primero, además de estas funciones, se encarga de la vasodilatación y la inhibición del sistema nervioso simpático (Kragelund *et al.*, 2005).

3. OBJETIVOS

La determinación de marcadores de riesgo ha transformado la medicina cardiovascular. Por ello, el objetivo de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica para conocer los nuevos marcadores de ECV que puedan ser útiles para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de estas enfermedades. Esta información podría ayudar a:

- Ajustar el grado de riesgo de ECV y así, reclasificar a un paciente con un riesgo bajo o medio a una categoría inmediatamente superior en función de los biomarcadores emergentes.
- Detectar de forma precoz, sencilla y no invasiva las ECV pudiendo hacer un seguimiento y un control médico más exhaustivo.

4. METODOLOGÍA

Para el desarrollo de este trabajo se ha realizado una búsqueda bibliográfica en distintas plataformas *online* de donde se han recogido diversos artículos y revisiones científicas: PubMed, Medline, Google Scholar, Science Direct y la Revista Española de Cardiología.

La búsqueda se ha realizado utilizando las palabras clave: "Cardiovascular disease", "atherosclerosis", "novel cardiovascular risk markers", "cardiovascular biomarkers", "cardiovascular prognostic factors", "PCSK9", "monocytes", "ST2s", "mi-RNA". Además, se han utilizado datos epidemiológicos de la página web oficial de la Organización Mundial de la Salud.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A día de hoy, el diagnóstico de ECV principalmente se lleva a cabo por técnicas de imagen y por la medición de los valores de colesterol, troponina T, proteína C reactiva (PCR) y péptidos natriuréticos en sangre (Wang *et al.*, 2020). Sin embargo, al igual que las condiciones de vida del ser humano han ido evolucionando, a su vez lo han hecho los marcadores que permiten estratificar el riesgo de forma cada vez más precisa.

Ya que el estudio de nuevas técnicas de diagnóstico puede conducir en ocasiones a dudas sobre si esa nueva técnica estará a la altura del método elegido hasta el momento o *gold-standard*, este trabajo se centra, dentro de la gran cantidad de marcadores de riesgo existentes, en mencionar a los más novedosos y los mejor validados mediante estudios clínicos. Estos marcadores se pueden determinar mediante técnicas no invasivas y presentan un alto nivel de especificidad y sensibilidad.

5.1. Proteína convertasa subtilisina kexina tipo 9

En el año 2003, Nabil G. Seidah, un científico canadiense, identificó por primera vez la PCSK9 y descubrió que mutaciones puntuales del tipo ganancia de función del gen que la codifica causaban hipercolesterolemia familiar.

Por otro lado, otros hallazgos del "Dallas Heart Study" mostraron, en un grupo de afroamericanos, que mutaciones del tipo pérdida de función en el gen que codifica para PCSK9 estaban asociadas a niveles de colesterol muy bajos y a una incidencia muy reducida de ECV (Hajar, 2019).

La pérdida de función de este gen se asociaba a una disminución de los valores de colesterol LDL, lo que conlleva a una menor incidencia de la ECV.

Hoy por hoy, se sabe que la PCSK9 es una enzima producida por el hígado, células mesenquimales del riñón, por el intestino delgado y por células epiteliales del colon (Dwiputra *et al.*, 2017).

La PCSK9, es un miembro de una familia de nueve serin-proteasas. Los ocho miembros restantes son la proproteína convertasa 1 (PC1), PC2, FURIN, PC5, la enzima convertora de aminoácidos emparejados 4 (PACE-4), PC7 y la isoenzima subtilisina kexina 1, las cuales rompen precursores proteicos de factores de crecimiento, hormonas, receptores y factores de transcripción transmembrana antes de su secreción (Dwiputra *et al.*, 2017).

El gen PCSK9 humano codifica una proteína de 692 aminoácidos y de peso molecular 73 kD, que está compuesta de un péptido señal (aa 1-30), un prosegmento (aa 31-152), un dominio catalítico (aa 153-404), una región bisagra (aa 405-454) y un dominio C-terminal rico en cisteína e histidina (aa 455-692) (Fuentealba y González, 2016) (Figura 1).

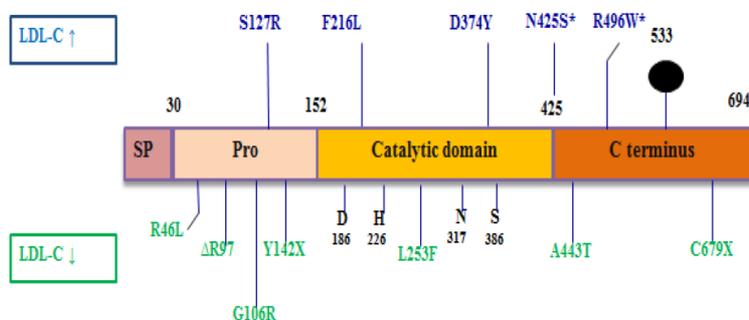


Figura 1. Componentes de la proteína PCSK9. *Figura tomada de Dwiputra et al., 2017.*

En condiciones fisiológicas, el colesterol LDL se une a su receptor en la superficie de los hepatocitos y este complejo es endocitado por vesículas recubiertas de clatrina. En el interior del hepatocito, una vez que esta vesícula es degradada por acción del pH ácido, el receptor se libera y vuelve a la superficie.

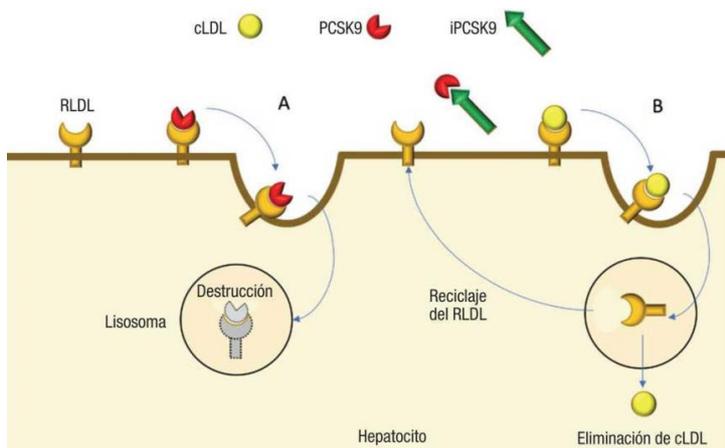


Figura 2. Mecanismo de acción de la PCSK9 sobre los receptores LDL. *Figura tomada de López-Sendón et al., 2017.*

Cuando está presente la PCSK9, ésta se une a dichos receptores en la superficie. La unión PCSK9 - receptor LDL promueve la degradación de los receptores en los lisosomas del interior del hepatocito (Figura 2).

Existen estudios que demuestran la importancia de la PCSK9 en eventos coronarios. En 2006, Cohen *et al.* compararon, en un trabajo considerado de referencia, la incidencia de mutaciones de la PCSK9 entre sujetos de raza blanca y de raza negra durante 15 años.

De los 3.363 individuos de raza negra observados, el 2,6% tenían mutaciones sin sentido en el gen de PCSK9. Esta mutación del tipo pérdida de función fue asociada con la reducción media de un 28% de colesterol LDL y una reducción del 88% en el riesgo de ECV. De los 9.524 sujetos de raza blanca,

3,2% tenían una variación en la secuencia de PCSK9 asociada a la reducción de un 15% de colesterol LDL y una reducción del 47% en el riesgo cardiovascular.

De este estudio, se concluyó que la reducción moderada de colesterol LDL, especialmente debida a la inhibición de PCSK9, está asociada con una reducción sustancial en la incidencia de eventos coronarios (Dwiputra *et al.*, 2017). La evidencia obtenida en diversos ensayos clínicos ha mostrado que por cada 39 mg/dl de descenso de la concentración de c-LDL, se consigue una disminución de un 20% de la tasa anual de infartos agudos de miocardio y de accidentes cerebrovasculares (Fuentealba y González, 2016).

En definitiva, las mutaciones de ganancia de función y, por tanto, la degradación masiva de estos receptores implica niveles de colesterol circulantes mucho mayores, de ahí la importancia de la PCSK9 como marcador de ECV.

Además de su valor como marcador cardiovascular, hay que destacar la importancia de la inhibición de la PCSK9 como mecanismo a tener en cuenta en el desarrollo de nuevos tratamientos para mejorar los niveles de colesterol sanguíneo.

Existen pacientes que utilizando fármacos tradicionales como ezetimiba y estatinas no consiguen una buena reducción de los niveles séricos de c-LDL. Esto puede ser debido a una intolerancia a las estatinas o a causas genéticas. La estrategia en la que más se ha avanzado para controlar la PCSK9 es a través de anticuerpos monoclonales anti-PCSK9, pero también ARNs de interferencia y oligonucleótidos antisentido.

Los medicamentos más importantes en el campo de los anticuerpos monoclonales anti-PCSK9 son Alirocumab y Evolocumab. En 2015 ambos fueron aprobados por la FDA.

5.2. Monocitos clásicos, intermedios y no clásicos

Los monocitos son células mononucleares del sistema inmunitario. Se engloban dentro de las células blancas de la sangre, siendo las de mayor tamaño. Se caracterizan por la ausencia de granulocitos, pero poseen en su citoplasma lisosomas primarios que intervienen en el proceso de fagocitosis.

Se generan en la médula ósea y después viajan por el sistema circulatorio hasta llegar a los tejidos diana, interviniendo en la defensa del organismo. Una vez han sido reclutados rápidamente al tejido, pueden diferenciarse en macrófagos o células dendríticas.

Avances recientes en la investigación inmunológica han descubierto que los monocitos son heterogéneos entre sí y se pueden dividir en tres subconjuntos basados en marcadores de superficie específicos y que cada subconjunto muestra funciones específicas (Yang *et al.*, 2014).

Como se ha mencionado previamente en la Introducción, se pueden dividir los monocitos en tres grupos, Mon1, Mon2 y Mon3, siendo éstos los monocitos clásicos, monocitos intermedios y monocitos no clásicos, respectivamente. Estos tres subtipos se pueden distinguir por citometría de flujo de acuerdo a la expresión de marcadores de superficie CD14 y CD16.

CD14 es una glicoproteína que actúa como receptor de membrana en monocitos y macrófagos y cuya función es reconocer componentes bacterianos como lipopolisacáridos (LPS). La interacción CD14-LPS induce la activación celular con liberación de sustancias proinflamatorias.

CD16, en cambio, es una molécula de la superfamilia de las inmunoglobulinas implicada en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos. En este caso se encuentra, además de en monocitos y macrófagos, en células *Natural Killer* y neutrófilos. Actúa como receptor Fc o receptor

específico para anticuerpos pudiendo activar procesos de fagocitosis, degranulación y daño oxidativo que permite a los neutrófilos eliminar patógenos opsonizados.

Los monocitos clásicos (Mon1) tienen alta expresión de CD14 y carecen de CD16 (CD14⁺⁺ CD16⁻), mientras que los monocitos no clásicos (Mon3) tienen baja expresión de CD14 y expresan CD16 (CD14⁺CD16⁺⁺). Los monocitos intermedios o Mon2 expresan ambos marcadores de superficie de manera CD14⁺⁺CD16⁺.

En cuanto a la relación de los monocitos con la ECV, existen hallazgos clínicos emergentes que revelan una mayor prevalencia de monocitosis en las ECV, como lo demuestra el mayor recuento de monocitos en pacientes con infarto agudo de miocardio (Afiune Neto *et al.*, 2006). Además, los niveles altos de monocitos se asocian con niveles reducidos de lipoproteínas de alta densidad (HDL).

Otros estudios, han demostrado que CD16 se relaciona con aterosclerosis y ECV. En comparación con los monocitos clásicos, los CD14⁺CD16⁺⁺ tienen capacidad fagocítica reducida, producen menos especies reactivas del oxígeno y expresan menos niveles de CCR2, un receptor que media quimiotaxis durante la inflamación, además de niveles más altos de CX3CR1, un receptor de citoquinas que media la acumulación de monocitos residentes (Geissmann *et al.*, 2003).

Esto se traduce en que los monocitos no clásicos, en general, tienen una menor función fagocítica y una menor capacidad antimicrobiana, mientras que los monocitos clásicos (CD14⁺⁺ CD16⁻) expresan niveles muy altos de CCR2 y bajos de CX3CR1, siendo su principal tarea la fagocitosis, la actividad peroxidasa y la producción de altos niveles de IL-10 Y TNF-alfa en respuesta a LPS (Figura 3).

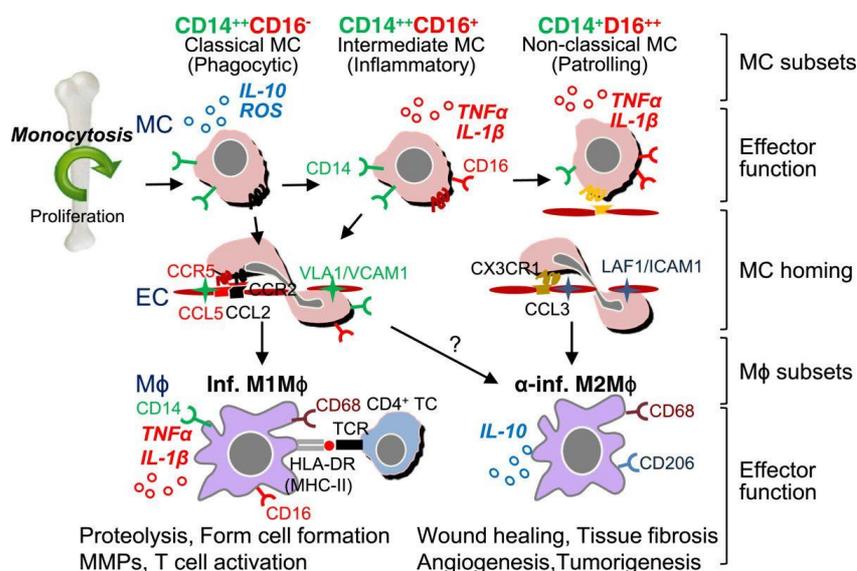


Figura 3. Tipos de monocitos y sus funciones principales. *Figura tomada de Yang et al., 2014.*

Es por ello, que los monocitos no clásicos o CD14⁺CD16⁺⁺ se consideran monocitos inflamatorios, y están relacionados, además de con enfermedad coronaria y aterosclerosis, con otras enfermedades como artritis reumatoide, síndrome hemofagocítico y enfermedad de Crohn. Asimismo, los niveles elevados circulantes de este tipo de monocitos se correlacionan positivamente con los niveles de lípidos aterogénicos y con la vulnerabilidad de la placa.

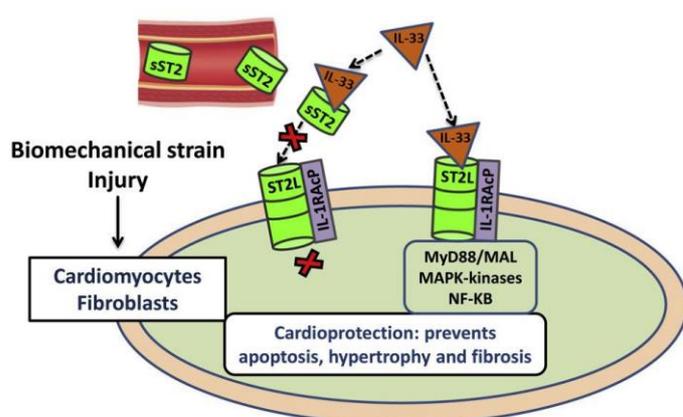
Los datos experimentales han mostrado que un aumento en el recuento de monocitos puede ser útil como marcador biológico predictivo y como indicador de pronósticos desfavorables en pacientes con síndromes coronarios agudos, post-infarto, insuficiencia cardíaca, enfermedad coronaria y aterosclerosis. También se asocia con una mayor mortalidad hospitalaria (Charach *et al.*, 2019).

5.3. ST2 soluble

El ST2 soluble es un miembro de la superfamilia de receptores tipo Toll de la interleucina 1 (IL-1). ST2 soluble ha sido estudiado como herramienta pronóstica en pacientes que sufren tanto insuficiencia cardiaca aguda como crónica (Suryadevara *et al.*, 2016).

Existen dos isoformas de ST2: ST2L o ligando y ST2s o soluble. El primero es un receptor transmembrana, responsable de una cascada de señalización cuando se produce la unión receptor-ligando y el segundo es una forma circulante que se detecta en sangre y que actúa como receptor competitivo. El ligando de ambas isoformas de ST2 es la interleucina 33 (IL-33), miembro de la familia IL-1, la cual puede actuar tanto como citoquina tradicional como factor de transcripción.

La IL-33 es producida por distintos tipos de células que actúan como barrera (células endoteliales, células epiteliales pulmonares e intestinales, queratinocitos, fibroblastos y células del músculo liso) y se regula negativamente en condiciones inflamatorias (Martin y Martin., 2016).



En general, se sabe que la IL-33 tiene funciones cardioprotectoras con beneficios antihipertróficos y antifibróticos para el miocardio. Es por ello, que ST2s, al actuar como receptor competitivo de esta interleucina, bloquea la cascada de señalización que tendría lugar si la IL-33 se uniese a ST2L, lo que generaría una apoptosis excesiva de cardiomiocitos y fibrosis miocárdica (Figura 4).

Figura 4. Efecto competitivo de las dos isoformas de ST2.
Figura tomada de Pascual-Figal y Januzzi, 2015.

Existen estudios recientes que sugieren un valor pronóstico muy importante de ST2s, tanto en insuficiencia cardiaca crónica donde predice el desarrollo de la enfermedad en los pacientes mejor que la porción N-terminal del pro-péptido natriurético tipo B o la troponina T de alta sensibilidad, como en insuficiencia cardiaca aguda, donde tiene un gran valor para monitorizar y tomar decisiones terapéuticas en pacientes con insuficiencia aguda descompensada e infarto agudo de miocardio (Emdin *et al.*, 2018), (Maisel y Filippatos, 2016).

En insuficiencia aguda descompensada, en contraste con los péptidos natriuréticos, ST2s no se ve influido por la edad, índice de masa corporal, función renal o etiología del fallo cardiaco, y comparado con otros biomarcadores, tiene una menor variación intraindividual (Aleksova *et al.*, 2019).

Por tanto, ST2s representa, especialmente cuando se combina con péptidos natriuréticos, troponinas y variables clínicas, una herramienta prometedora para mejorar la estratificación del riesgo y la evaluación tanto diagnóstica como terapéutica de los pacientes ingresados en urgencias (Aleksova *et al.*, 2019).

5.4. MicroARN

Los microARN (miARN) son una clase de ARN no codificante de pequeño tamaño (20-25 nucleótidos) que participan en la regulación génica.

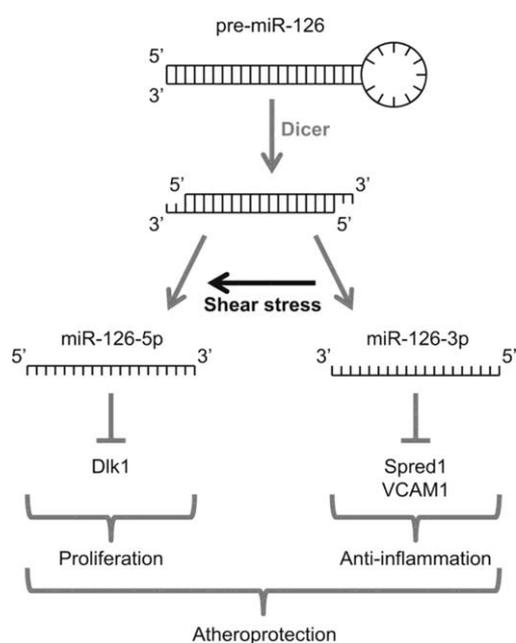
Los miARNs maduros se producen a partir de un precursor de mayor tamaño (pre-miARN) que se encuentra codificado en el genoma y regulan determinados genes diana mediante la unión a regiones complementarias de RNA mensajero (mARN). Este acoplamiento suele tener como resultado un aumento de la tasa de degradación del mARN o una inhibición de la traducción. El resultado, en ambos casos, es una disminución de la expresión del gen codificado en el mARN diana.

En los últimos años, los miARN han emergido como un mecanismo epigenético clave en el desarrollo y en la funcionalidad del sistema cardiovascular. Estas especies moleculares regulan funciones básicas en prácticamente todos los tipos celulares y por ello están directamente asociadas con la fisiopatología de un gran número de ECV. Desde su relativamente reciente descubrimiento en fluidos extracelulares, los miARN han sido estudiados como potenciales biomarcadores de enfermedad (Gonzalo-Calvo et al, 2017).

Están relacionados con numerosos procesos; remodelado miocárdico, fibrosis, inflamación vascular, procesado de lípidos, incluso se ha observado que los microARN pueden actuar como nuevos biomarcadores de actividad plaquetaria y sus niveles pueden ser modificados si se administra terapia antiplaquetaria. Se están desarrollando antagonistas de microARN sintéticos que podrían suponer beneficios en la ECV (Thomas y Gregory, 2017).

5.4.1. MicroARN 126

La biogénesis de microARN está controlada por múltiples enzimas que producen 3 productos principales de ARN: micro ARN primario (pri-), precursor (pre-) y maduro. El microARN maduro se origina desde el extremo 5' o desde el extremo 3' del precursor y se acaba denominando con el sufijo -5p o -3p, respectivamente (Mitra *et al.*, 2015) (Figura 5).



Normalmente uno de ellos es funcional y el otro se degrada. Sin embargo, en el caso de miR-126, ambas cadenas son biológicamente activas. Las dos hebras maduras, miR-126-5p y miR 126-3p son los microARN más abundantes en las células endoteliales.

Un estudio de 2014 del grupo de Shoher, determina la función de cada una de las hebras del microARN 126 en la reparación endotelial. Para comprender este estudio, es primordial entender que existen varios mecanismos metabólicos e inmunes que pueden inducir la lesión y la muerte de las células endoteliales, lo que provoca un desprendimiento de las mismas de la pared vascular y causa disfunción endotelial. La integridad endotelial se mantiene normalmente gracias al reemplazo de las células endoteliales que están dañadas por células endoteliales sanas (Shoher *et al.*, 2014).

Figura 5. Generación de las dos hebras de microARN 126. *Figura tomada de Boon y Dimmeler, 2014.*

Este estudio, entre otras cosas, demuestra que la hebra miR-126-5p previene la formación de lesiones ateroscleróticas ya que tiene como diana la proteína DLK1 (ligando no canónico de la ruta de Notch).

DLK1, también conocido como Pref-1 y FA1, es una proteína transmembrana perteneciente a la superfamilia del factor de crecimiento epidérmico. Varios informes respaldan que DLK1 puede funcionar como ligando no canónico de la ruta de Notch ya que se asemeja estructuralmente a los ligandos Notch (Rodríguez *et al.*, 2011).

En concreto, el experimento de Shoher en ratones, muestra que miR-126-5p suprime la acción de DLK1, que en condiciones normales es inhibir la proliferación de células endoteliales, por tanto, mejora la reparación endotelial *in vivo*.

En cuanto a miR-126-3p se cree que su diana son moléculas de adhesión vascular en células endoteliales VCAM-1 y que induce efectos ateroprotectores al ser sistemáticamente administrado, pero de una manera más moderada.

5.4.2. MicroARN 1

Dentro de todos los MicroARN conocidos, miR-1 es específico del músculo y se expresa en gran proporción en el tejido cardíaco (Malizia y Wang, 2011).

MiR-1 está codificado por dos genes casi idénticos: miR-1-1 y miR-1-2 hallados en los cromosomas 20 y 18, respectivamente. Tanto el primero como el segundo dan especies de miR-1 maduras idénticas, que parecen tener como diana los mismos mRNAs. En consecuencia, cuando se realiza una eliminación del gen miR-1-2 en ratones, se provocan diversas anomalías cardíacas pero generalmente sobreviven a ello porque el gen miR-1-1 genera microARN 1. En cambio, cuando los ratones carecen de ambos genes desarrollan alteraciones mucho más graves y mueren antes del destete (Heidersnach *et al.*, 2013). Estos hallazgos sugieren que la expresión apropiada de miR-1 es necesaria para la cardiogénesis y el mantenimiento de la función cardíaca normal (Li J *et al.*, 2014).

La expresión alterada de miR-1 se ve relacionada por algunas investigaciones con diversos eventos cardiovasculares, entre ellos algunos tipos de arritmias, infarto de miocardio, hipertrofia e insuficiencia cardíaca.

En cuanto a las arritmias, el grupo de Terentyev demostró que en miocitos ventriculares de ratón, la sobreexpresión de miR-1 podía inhibir la subunidad B56 α de la proteína fosfatasa PP2A. Esto se traduce en un aumento de la actividad de los canales RyR2 por fosforilación del receptor de rianodina con el resultado de una fuga del contenido de calcio del retículo sarcoplásmico, un aumento la excitación-contracción cardíaca y, en consecuencia, alteraciones del ritmo en los ciclos del calcio de los miocitos (Terentyev *et al.*, 2009).

En relación con miR-1 e insuficiencia cardíaca, se ha descubierto que la apoptosis excesiva de los cardiomiocitos está estrechamente relacionada con la expresión anormal de miR-1. Al tratar cultivos de cardiomiocitos con H₂O₂ se aumenta significativamente la tasa de células apoptóticas a la vez que la expresión de miR-1. Mientras que la sobreexpresión de miR-1 agrava la apoptosis de cardiomiocitos inducida por H₂O₂, otros experimentos encontraron que la inhibición de miR-1 utilizando oligonucleóticos inhibitorios antisentido daba como resultado una resistencia significativa al H₂O₂ (Tang *et al.*, 2009). La destrucción de cardiomiocitos por apoptosis es un mecanismo de insuficiencia cardíaca a corto plazo.

Por otro lado, también existen estudios que relacionan la expresión alterada de este microARN con la hipertrofia cardíaca. Se ve que, en ratones con hipertrofia del ventrículo izquierdo e hipertrofia de los cardiomiocitos inducida por fenilefrina, los niveles de miR-1 están significativamente disminuidos de manera concomitante con los niveles de proteína twinfilina 1, diana de este microARN. Esta proteína estimula la hipertrofia a través de la regulación del citoesqueleto cardíaco (Li *et al.*, 2014). Esto quiere decir que miR-1 tiene propiedades anti-hipertróficas y, lo que es más

importante, un potente valor diagnóstico del riesgo cardiovascular. Se ha observado que los niveles de este microARN disminuyen en pacientes con infarto de miocardio y en ratones con lesiones por isquemia-reperfusión.

En un estudio de Glass y Singla en 2011, se transplantaron células madre embrionarias transfectadas con miR-1 (miR-1-ES) en el corazón infartado de un ratón y la función cardiaca mejoró significativamente tras 2 semanas. El efecto beneficioso de este trasplante se atribuyó a la protección de la apoptosis del miocardio por la activación de p-AKT, la inhibición del homólogo de la caspasa 3, fosfatasa y tensina y la inhibición también de la producción de aniones superóxido.

Se ha sugerido que el aumento de miR-1 circulante podría servir como biomarcador independiente para el diagnóstico de infarto agudo de miocardio ya que no se relaciona con la edad, género, presión arterial, diabetes mellitus o con los biomarcadores ya establecidos para infarto agudo de miocardio.

5.4.3. MicroARN 133

MiR-133 es un microARN que se caracterizó por primera vez en ratones de forma experimental. Existen tres genes que codifican para miR-133: miR 133a-1, miR 133a-2 y miR 133b, localizados en los cromosomas 18, 20 y 6, respectivamente. Es importante destacar que los dos primeros tienen secuencias de nucleótidos idénticas mientras que miR 133b difiere en los dos últimos nucleótidos en el extremo 3' (Li *et al.*, 2018).

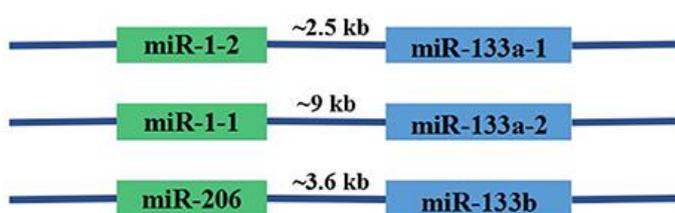


Figura 6. Organización genómica de la familia miR133.
Figura tomada de Li *et al.*, 2018.

Como se ha mencionado en el apartado anterior, los genes que codifican para miR-1 también se encuentran en los cromosomas 18 y 20. De hecho, miR 113a-1 y miR 133a-2 se transcriben en una transcripción bicistrónica con miR-1-2 y miR 1-1, mientras que miR 133b lo hace con miR 206 (Figura 6).

Los sitios en los que se expresan miR 133a y miR 133b también difieren: el grupo bicistrónico miR 1/miR 133a se expresa en músculo esquelético y cardiaco mientras que el grupo miR 206/miR 133b se expresa en tejido esquelético (Ivey *et al.*, 2008). Estos genes están relacionados con múltiples enfermedades humanas entre las que se encuentran varios tipos de cáncer (gástrico, de pulmón y tumores hipofisarios) y ECV.

MiR 133 se expresa predominantemente en cardiomiocitos y fibroblastos cardiacos y la sobreexpresión o la eliminación dirigida de estos genes han revelado muchas de sus funciones y de sus dianas en el remodelado cardiaco (Townley-Tilson *et al.*, 2010).

El remodelado cardíaco se define como el conjunto de cambios estructurales y moleculares del miocardio que se observan secundariamente a una sobrecarga o daño miocárdico (Rivera *et al.*, 2006). Estos cambios estructurales son un intento para adaptarse a la elevación en la tensión de la pared y mantener el gasto cardíaco. Entre ellos, se encuentran la hipertrofia de los cardiomiocitos, la liberación de citocinas proinflamatorias (IL-6, TNF- α , IL 1- β) y los cambios en la composición y distribución de los componentes de la matriz extracelular (Okada *et al.*, 2010).

En primer lugar, en cuanto a su papel en este proceso, miR 133 inhibe la progresión de la fibrosis cardiaca. La fibrosis cardiaca no es más que el depósito excesivo de los componentes de matriz extracelular y la transformación de fibroblastos cardiacos a miofibroblastos, fundamentales en

procesos de regeneración y reparación de órganos. Estos procesos tienen un impacto muy negativo sobre la función del corazón.

En segundo lugar, este microARN inhibe la progresión de la hipertrofia cardiaca. MiR 133 es capaz de regular las cascadas de señalización implicadas en este proceso, incluyendo la cascada de señalización MAPK, la cascada de señalización dependiente de calcineurina, la cascada JAK/STAT y la PI3K/Akt.

Por último, miR 133, junto con otros tipos de microARN es capaz de mantener la función de los cardiomiocitos y disminuir los procesos apoptóticos.

Las múltiples correlaciones del miR 133 con la ECV justifica el enorme potencial de este microARN para el diagnóstico y tratamiento de las mismas. Por ejemplo, en pacientes quirúrgicos con enfermedad coronaria, la disminución de la expresión de miR-133 se correlaciona significativamente con una mayor gravedad de la insuficiencia cardiaca (Danowski *et al.*, 2013).

También se han detectado niveles más bajos de miR 133 en células mononucleares de sangre periférica de pacientes con disfunción diastólica del ventrículo izquierdo en comparación con los individuos sanos (Marketou *et al.*, 2013).

5.4.4. MicroARN 208

La familia de miR-208 está constituida por dos microARN codificados por dos genes distintos: miR 208-a y miR 208-b. MiR 208-a está codificado por un intrón del gen Myh6 de la cadena pesada de α -miosina del músculo cardiaco (α MHC) y se expresa de forma específica en el corazón, mientras que miR 208-b está codificado por un intrón del gen Myh7 de la cadena pesada de β -miosina del músculo cardiaco (β MHC) y se expresa tanto en músculo cardiaco como en músculo esquelético.

En un estudio realizado por el grupo de Callis (2009), se observó que la isoforma β MHC también conocida como la isoforma lenta, era específica de corazones fetales, mientras que la isoforma α MHC o rápida, era predominante en los corazones adultos.

Centrándose en miR 208-a, específico en corazón adulto, en el estudio de Callis se sobreexpresó este microARN en el corazón de ratones mediante modificación genética y se llegó a la conclusión de que dicha sobreexpresión es suficiente para generar hipertrofia cardiaca (Figura 7).

Por otro lado, se observó que tanto miR 208-a como miR 208-b tienen como diana Thrap 1 (componente del complejo receptor de la hormona tiroidea) y miostatina, dos reguladores importantes de hipertrofia y crecimiento muscular. Además del importante papel de miR 208-a en la hipertrofia cardiaca, se identifica este microARN como una molécula reguladora necesaria para la conducción cardiaca adecuada (Callis *et al.*, 2009). Por último y no menos importante, existen estudios que han demostrado la importancia de miR 208 como marcador fiable de infarto agudo de miocardio junto con miR 499.

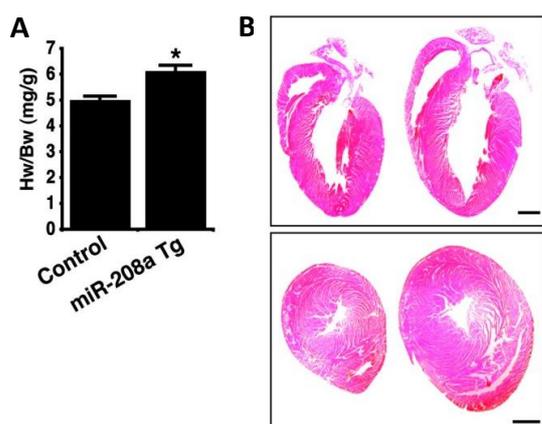


Figura 7. A) Relación peso corazón/peso cuerpo de ratones control y ratones transgénicos. B) Vista macroscópica de cortes histológicos del corazón de ratones control (izquierda) y de ratones transgénicos (derecha). *Figura tomada de Callis et al., 2009.*

En el laboratorio de Corsten en 2010 midieron los niveles de distintos miARNs en pacientes con infarto agudo de miocardio (IAM) y en pacientes sin enfermedad cardiaca. Encuentran una elevación de miR 208-b y miR 499 mucho más alta en pacientes con IAM que en el resto de microARN, lo que les lleva a pensar que estos dos microARN podrían considerarse los mejores marcadores en cuanto al diagnóstico de IAM. Por otro lado, evaluaron la correlación entre los niveles plasmáticos de miR 208-b y miR 499 y los niveles plasmáticos de marcadores tradicionales de daño cardiaco como troponina T y creatinina fosfoquinasa en el grupo de los pacientes enfermos. Ambos, tanto miR 499 como miR 208-b presentan niveles de correlación muy altos con los marcadores tradicionales, siendo miR 499 el que más (Figura 8).

5.4.5. MicroARN 499

Por último, como acabamos de mencionar en el apartado anterior, miR-499 es un microARN que tiene un gran interés como potencial biomarcador de ECV. Se codifica por un intrón del gen Myh14 hallado en el cromosoma 20.

MiR 499 se expresa de forma muy abundante en células cardiacas y es prácticamente indetectable en células madre cardiacas humanas (hCSC) y en células madre embrionarias humanas (hESC). Podemos encontrar este microARN en cardiomiocitos post-mitóticos y continúa expresándose en cardiomiocitos fetales, neonatales y adultos (Li *et al.*, 2013).

El estudio de Li y su grupo de investigación en 2013, evalúa la ganancia y la pérdida de función de miR-499 y su relación con la proliferación y la apoptosis de cardiomiocitos. Para ello, se sobreexpresa este microARN en líneas celulares cardiomiocitarias del tipo P19CL6 y se comparan con células sin sobreexpresión de miR 499 en ratas transgénicas. En estos ensayos se ve que el aumento de miR 499 conlleva a la proliferación celular e inhibe la apoptosis.

El mecanismo de acción de este microARN tiene como diana el factor de transcripción SOX 6. Este factor de transcripción se encuentra en distintos tejidos, pero en el caso del corazón, su función principal es inhibir la proliferación celular, siendo capaz de revertir el efecto antiapoptótico que causa miR 499.

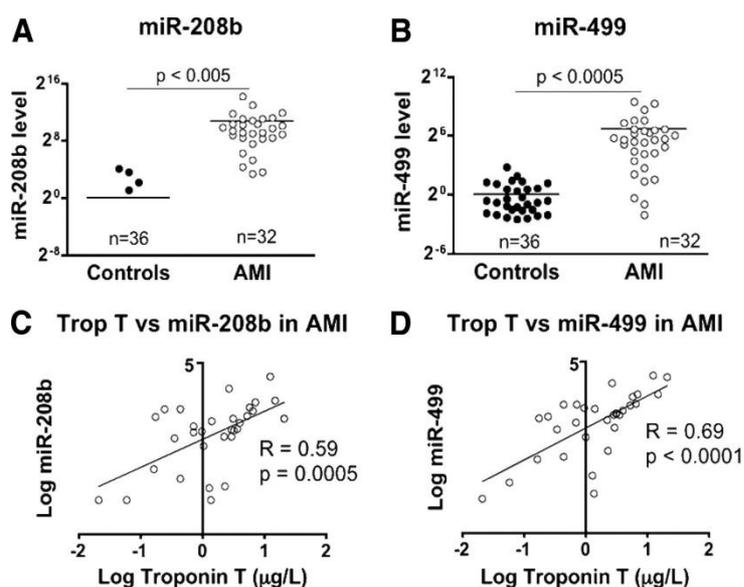


Figura 8. MiR-208b y miR-499 como potenciales biomarcadores circulantes para IAM. A y B: Diagramas de dispersión de los niveles plasmáticos de miR en sujetos control vs pacientes con infarto agudo de miocardio (AMI). C y D) Partiendo de los grupos con AMI, correlaciones significativas de los niveles de miR-208b y miR-499 con los niveles circulantes de troponina T. *Figura tomada de Corsten et al., 2010.*

Investigaciones más minuciosas llegan a la conclusión de que SOX 6 puede regular de forma negativa la transcripción del gen de la ciclina D1, siendo esta una proteína que ayuda a controlar la multiplicación celular. Estos resultados podrían indicar que la verdadera diana de miR 499 es la proteína ciclina D1 y aumenta su expresión a través de una vía en la que interviene SOX 6.

En definitiva, los corazones de ratas transgénicas con sobreexpresión de este microARN muestran un alargamiento de las células cardiacas acentuado y una disfunción contráctil severa.

Para finalizar este apartado, y como se ha mencionado en el apartado anterior, miR 499 es el microARN más prometedor como potencial biomarcador en infarto agudo de miocardio (Figura 8).

En un estudio específico para miR 499 realizado en 2015 por el grupo de Chen, se encuentran niveles elevados de este microARN en un grupo de pacientes con infarto agudo de miocardio 12 horas después del inicio de los síntomas. Además de unos niveles de correlación muy positivos en comparación con los marcadores tradicionales, en este estudio se demostró que los niveles de miR 499 están, a su vez, correlacionados positivamente con la severidad de estenosis coronaria en pacientes con enfermedad coronaria.

En conclusión, miR-499 ha demostrado ser un nuevo biomarcador para el diagnóstico de infarto agudo de miocardio y la evaluación clínica del riesgo de isquemia miocárdica, mejorando así la sensibilidad y la especificidad de la detección de pacientes con infarto agudo de miocardio (Chen *et al.*, 2015).

6. CONCLUSIONES

Pese al gran avance en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las ECV, tanto su prevalencia como los datos de mortalidad y morbilidad siguen resultando un reto a día de hoy para la medicina. A la vista de los resultados de esta revisión bibliográfica, tanto la proproteína convertasa subtilisina kexina tipo 9 (PCSK9), los distintos tipos de monocitos, la forma soluble de ST2 y los distintos tipos de microARN, juegan un papel clave como potenciales marcadores diagnóstico que pueden mejorar la calidad de vida de muchas personas.

Conocer las dianas de estas moléculas, su mecanismo de acción y sus vías de señalización, favorece el establecimiento de un tratamiento más individualizado en los pacientes cardiovasculares. Esta información permite, por un lado, una terapia en pacientes que de manera errónea no han sido considerados de riesgo tras el diagnóstico con los marcadores tradicionales y por otro, una terapia alternativa en individuos que no responden de manera óptima al tratamiento pautado. Asimismo, el conocimiento de estas moléculas ha sido la base del desarrollo de nuevas terapias farmacológicas, como los anticuerpos monoclonales anti-PCSK9 y los antagonistas de microARN sintéticos.

Los marcadores seleccionados en este trabajo han demostrado, tras numerosas investigaciones, su facilidad de detección en plasma sanguíneo, su gran especificidad y utilidad de pronóstico. Sin embargo, a pesar de constituir un campo emergente prometedor, se debe seguir investigando a estos marcadores en profundidad para que se puedan incorporar a la práctica clínica en un futuro no muy lejano, combinándose con marcadores tradicionales conocidos hasta el momento o como nuevos *gold-standard* independientes.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Afiune A, Mansur P, Avakian SD, Gomes EP y Ramires JA. Monocytosis is an independent risk marker for coronary artery disease. *Arq Bras Cardiol.* 2006; 86:240-244.
- Aleksova A, Paldino A, Beltrami AP, Padoan L, Iacoviello M, Sinagra G, *et al.* Cardiac Biomarkers in the Emergency Department: The Role of Soluble ST2 (sST2) in Acute Heart Failure and Acute Coronary Syndrome- There is Meat on the Bone. *J. Clin. Med.* 2019; 8:270.
- Boon RA y Dimmeler S. MicroARN-126 in Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014; 34:e15-e16.
- Bootcov MR, Bauskin AR, Valenzuela SM, Moore AG, Bansal M, Yan He X, *et al.* MIC-1, a novel macrophage inhibitory cytokine, is a divergent member of the TGF-beta superfamily. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997; 94:11514-11519.
- Branton MH y Kopp JB. TGF-beta in infectious diseases. *Microbes Infect.* 1999;1(15):1349-65.
- Callis ET, Pandya K, Seok HY, Tang RH, Tatsuguchi M, Huang Z.P, *et al.* MicroARN-208a is a regulator of cardiac hypertrophy and conduction in mice. *J Clin Invest.* 2009;119(9):2772-2786.
- Carbayo JA. Nuevos marcadores de riesgo cardiovascular. ¿Pueden influir en la clasificación del riesgo cardiovascular?. *Clin Invest Arterioscl.* 2012;24(2):57-70.
- Chapman CM, Beilby JP, McQuillan BM, Thompson PL y Hung J. Monocyte count, but not C-reactive protein or interleukin-6, is an independent risk marker for subclinical carotid atherosclerosis. *Stroke.* 2004; 35:1619-1624.
- Charach G, Rogowski O, Karniel E, Charach L, Grosskopf I y Novikov I. Monocytes may be favorable biomarker and predictor of long-term outcome in patients with chronic heart failure. *Medicine(Baltimore).* 2019;98(38):e17108
- Chen JF, Mandel EM, Thomson JM, Wu Q, Callis TE, Hammond SM, *et al.* The role of MicroARN-1 and MicroARN-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation. *Nat. Genet.* 2006;38, 228–233.
- Chen X, Zhang L, Su T, Li H, Huang Q, Wu D, *et al.* Kinetics of plasma MicroARN-499 expression in acute myocardial infarction. *J Thorac Dis.* 2015;7(5):890-896.
- Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH Jr. y Hobbs HH. Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. *N Engl J Med.* 2006;354(12):1264–72.
- Corsten MF, Dennert R, Jochems S, Kuznetsova T, Devaux Y, Hofstra L, *et al.* Circulating MicroARN-208b and MicroARN-499 Reflect Myocardial Damage in Cardiovascular Disease. *Circ Cardiovasc Genet.* 2010; 3:499-506.
- Danowski N, Manthey I, Jakob H, Siffert W, Peters J y Frey U. Decreased Expression of miR-133a but Not of miR-1 is Associated with Signs of Heart Failure in Patients Undergoing Coronary Bypass Surgery. *Cardiology.* 2013; 125:125-130.
- Dwiputra B, Santoso A y K. Poh K. Targeting pro-protein convertase subtilisin kexin-9 as a novel therapy of hypercholesterolemia. *Med J Indones.* 2017; 26:152-7.
- Emdin M, Aimo A, Vergaro G, Bayes-Genis A, Lupón J, Latini R, *et al.* sST2 Predicts Outcome in Chronic Heart Failure Beyond NT-proBNP and High-Sensitivity Troponin T. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2018; 72:2309-2320.
- Fuentealba R y González DR. PCSK9, un nuevo blanco terapéutico para el control de la hipercolesterolemia. *Rev. Fac. Cienc. Salud UDES.* 2016;3(2):128-137.
- Ganguly P y Alam SF. Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. *Nutr J.* 2015; 14:6.
- Geissmann F, Jung S y Littman DR. Blood monocytes consist of two principal subsets with distinct migratory properties. *Immunity.* 2003; 19:71-82.
- Glass C y Singla D. MicroARN-1 transfected embryonic stem cells enhance cardiac myocyte differentiation and inhibit apoptosis by modulating the PTEN/AKT pathway in the

- infarcted heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011;301:H2038-H2049.
- Gonzalo-Calvo D, Iglesias-Gutiérrez E, Llorente-Cortés V. Biomarcadores epigenéticos y enfermedad cardiovascular: los microARN circulantes. *Rev Esp Cardiol*. 2017;70 (9):763-769.
 - Hajar R. PCSK9 inhibitors: A short history and a new era of lipid-lowering therapy. *Heart Views*. 2019;20:74-5.
 - Heidersbach A, Saxby C, Carver-Moore K, Huang Y, Ang YS, de Jong PJ *et al*. MicroARN-1 regulates sarcomere formation and suppresses smooth muscle gene expression in the mammalian heart. *eLife*. 2013;2:e01323.
 - Hoover-Plow J y Huang M. Lipoprotein (a) metabolism: potential sites for therapeutic targets. *Metabolism*. 2013;62 (4):479-491.
 - Ivey KN, Muth A, Arnold J, King FW, Yeh RF, Fish JE *et al*. MicroARN regulation of cell lineages in mouse and human embryonic stem cells. *Cell Stem Cell*. 2008;2(3):219-29.
 - Jiménez P. Marcadores sanguíneos utilizados en el diagnóstico y pronóstico del riesgo cardiovascular. En López A y Macaya C. *Libro de la salud cardiovascular del hospital clínico San Carlos y la Fundación BBVA*. 2009. España
 - Kempf T, Eden M, Strelau J, Naguib M, Willenbockel C, Tongers J *et al*. The transforming growth factor-beta superfamily member growth-differentiation factor-15 protects the heart from ischemia/reperfusion injury. *Circ Res*. 2006; 98:351-360.
 - Kragelund C, Grønning B, Køber L, Hildebrandt P y Steffensen R. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and long-term mortality in stable coronary heart disease. *N Engl J Med*. 2005; 352:666-675.
 - Leander K, Malarstig A, Van't Hooft FM, Hyde C, Hellénus ML, Troutt JS, *et al*. Circulating proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) predicts future risk of cardiovascular events independently of established risk factors. *Circulation*. 2016; 133:1230-1239.
 - Li J, Dong X, Wang Z y Wu J. MicroARN-1 in Cardiac Diseases and Cancers. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2014; 18:359-363.
 - Li N, Zhou H y Tang Q. MiR-133: A suppressor of cardiac remodeling?. *Front. Pharmacol*. 2018; 9:903.
 - Li X, Wang J, Jia Z, Cui Q, Zhang C, Wang W, *et al*. MiR-499 Regulates Cell Proliferation and Apoptosis during Late-Stage Cardiac Differentiation via Sox6 and Cyclin D1. *PLoS ONE*. 2013;8(9):e74504.
 - López-Sendón J, Castro A y Dalmau R. Una historia resumida. La inhibición de la PCSK9 y su desarrollo clínico. *Rev Esp Cardiol*. 2017;17(A):10-15.
 - Maisel AS y Filippatos GS. Algorithms in heart failure: Jaypee, *The Health Sciences Publisher*; 2016.
 - Malizia AP y Wang DZ. MicroARN in cardiomyocyte development. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*. 2011; 3:183-190.
 - Marketou M, Kontaraki J, Zacharis E, Parthenakis F, Margkoudakis S, Logakis J y Vardas P. MiR-21 and miR-133 levels in peripheral blood mononuclear cells associate with left ventricular diastolic dysfunction in patients with diastolic heart failure. *Eur. Heart*. 2013; 34: 68-68.
 - Martin NT y Martin MU. Interleukin 33 is a guardian of barriers and a local alarmin. *Nat. Immunol*. 2016; 17:122-131.
 - Mitra R, Lin CC, M. Eischen C, Bandyopadhyay S y Zhao Z. Concordant dysregulation of miR-5p and miR-3p arms of the same precursor MicroARN may be a mechanism in inducing cell proliferation and tumorigenesis: a lung cancer study. *RNA*. 2015; 21:1055-1065.
 - Mukherjee R, Kanti Barman P, Kumar Thatoi P, Tripathy R, Kumar Das B y Ravindran B. Non-classical monocytes display inflammatory features: validation in sepsis and systemic lupus erythematosus. *Sci Rep*. 2015; 5:13886.
 - Okada M, Yamawaki H y Hara Y. Angiotensin II enhances interleukin-1 beta-induced MMP-9 secretion in adult rat cardiac fibroblasts. *J Vet Med Sci*. 2010; 72:735-9.
 - Padró T, Suades R, Vilahur G y Badimón L. Las micropartículas derivadas de plaquetas potencian trombosis en placas

- ateroscleróticas humanas. *Rev Esp Cardiol.* 2011;64 Supl 3:339-340.
- Papageorgiou N, Briasoulis A, Hatzis G, Androulakis E, Kozanitou M, Miliou A et al. Atherosclerosis coronaria en pacientes hipertensos: el papel de la variabilidad genética del fibrinógeno. *Rev Esp Cardiol.* 2017;70(1):34-41.
 - Pascual-Figal DA y Januzzi JL. The biology of ST2: The International ST2 Consensus Panel. *Am J Cardiol.* 2015;115(7):3B-7B.
 - Rivera M, Taléns-Visconti R, Jordán A, Sirera R, Sevilla B, Climent V, et al. Remodelado miocárdico y activación inmunitaria en pacientes con insuficiencia cardíaca. *Rev Esp Cardiol.* 2006; 59:911-918.
 - Rodríguez-Artalejo F, Banegas JR, Guallar P y Rey Calero del J. Factores de riesgo cardiovascular clásicos y emergentes: implicaciones para la investigación y la prevención. *Clin Invest Arterioscler.* 2001;1 Suppl 13:23 -30.
 - Rodriguez P, Higuera M.A, González- Rajal A, Alfranca A, Fierro-Fernández M, García-Fernández R.A et al. The non-canonical NOTCH ligand DLK 1 exhibits a novel vascular role as a strong inhibitor of angiogenesis. *Cardiovasc Res.* 2011;93(2):232-241.
 - Saavedra Ramírez PG, Vásquez Duque GM, González Naranjo LA. Interleucina-6: ¿amiga o enemiga? Bases para comprender su utilidad como objetivo terapéutico. *IATREIA.* 2011;24(2):157-166.
 - Sabán J. Control global del riesgo cardiometabólico II: La disfunción endotelial como diana preferencial, Volumen 2. *Diagnóstico bioquímico de la disfunción endotelial.* 2017; Cap. 53, pp 1-33.
 - Shober A, Nazari-Jahantigh M, Wei Y, Bidzhekov K, Gremse F, Grommes J, et al. MicroARN-126-5p promotes endothelial proliferation and limits atherosclerosis by suppressing Dlk1. *Nat Med.* 2014; 20(4):368-376.
 - Suryadevara K, George M, Jena A, Dhandapani VE, Damodharan N y Jayasutha J. Evaluation of soluble ST2 as a novel cardiovascular biomarker in patients with acute myocardial infarction. *Int J Res Med Sci.* 2016;4(12):5297-5301.
 - Tang Y, Zheng J, Sun Y, Wu Z, Liu Z y Huang G. MicroARN-1 regulates cardiomyocyte apoptosis by targeting Bcl-2. *Int Heart J.* 2009;50(3):377-387.
 - Terentyev D, Belevych A, Terentyeva R, Martin M, Malana G, Kuhn D et al. MiR-1 overexpression enhances Ca(2+) release and promotes cardiac arrhythmogenesis by targeting PP2A regulatory subunit B56alpha and causing CaMKII-dependent hyperphosphorylation of RyR2. *Circ. Res.* 2009; 104,514–521.
 - Thomas MR y Gregory Y.H. Novel risk markers and risk assessments for cardiovascular disease. *Circ Res.* 2017; 120:133-149.
 - Thomas MR y Storey RF. The role of platelets in inflammation. *Thromb Haemost.* 2015; 114:449–458.
 - Toth PP, McCullough PA, Wegner MS y Colley KJ. Lipoprotein-associated phospholipase a2: Role in atherosclerosis and utility as a cardiovascular biomarker. *Expert Rev. Cardiovasc. Ther.* 2010; 8: 425-38.
 - Townley-Tilson WH, Callis TE y Wang D. MicroARN 1, 133, and 206: critical factors of skeletal and cardiac muscle development, function, and disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2010;42(8):1252-5.
 - Wang XY, Zhang F, Zhang C, Zheng LR, Yang. The biomarkers of Acute Myocardial Infarction and Heart Failure. *Biomed Res Int.* 2020:2018035.
 - Yang J, Zhang L, Yu C, Yang XF y Wang H. Monocyte and macrophage differentiation: circulation inflammatory monocyte as biomarker for inflammatory diseases. *Biomark Res.* 2014; 2:1.
 - Yin S, Huang M, Li D y Tang N. Difference of coagulation features between severe pneumonia induced by SARS-CoV2 and non-SARS-CoV2. *J Thromb Thrombolysis.* 2020.