



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA "IGNACIO CHAVEZ"

TESIS DE POSGRADO
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN CARDIOLOGÍA CLÍNICA

TÍTULO:
***MICRO-RNA (miRNA) EN PACIENTES CON SÍNDROME CORONARIO AGUDO Y
ECTASIA CORONARIA***

PRESENTA:
JORGE ALBERTO VEGA GÓMEZ

DIRECTOR DE ENSEÑANZA:
DR. CARLOS RAFAEL SIERRA FERNÁNDEZ

DIRECTOR DE TESIS:
DR. DIEGO ARAIZA GARAYGORDOBIL

CIUDAD UNIVERSITARIA, CIUDAD DE MÉXICO, JULIO 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



SALUD
SECRETARÍA DE SALUD



Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
Renacimiento de la excelencia

Ciudad de México, 20 de julio 2022

Dr. Gerhard Heinze Martin

Jefe de la Subdivisión de Especializaciones Médicas de Posgrado
Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México
Presente.

Por medio de la presente hago constar que el Proyecto de Investigación titulado: **MICRO-RNA (miRNA) EN PACIENTES CON SÍNDROME CORONARIO AGUDO Y ECTASIA CORONARIA**, presentado por el Dr. Jorge Alberto Vega Gómez, médico residente que cursa la Especialidad en Cardiología, ha sido aceptado por el Comité de Investigación de la Dirección de Enseñanza de este Instituto, cumpliendo con los requisitos para la titulación.

Sin más por el momento, le envío un cordial saludo.

Atentamente

Dr. **Carlos R. Sierra Fernández**
Director de Enseñanza



Dirección de Enseñanza

CSF/mmhm

Juan Badiano No.1, Col. Sección XVI, CP. 14700, Azcapotzalco, Ciudad de México.

Tel: (55) 5573 2011 www.cardiologia.org.mx



2022 Ricardo Flores
Año de Magón
PRELUSO DE LA REVOLUCIÓN MEXICANA



SALUD
SECRETARÍA DE SALUD



Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
Renacimiento de la excelencia

TESIS

**MICRO-RNA (miRNA) EN PACIENTES CON SÍNDROME CORONARIO AGUDO Y
ECTASIA CORONARIA**

Dr. Carlos Rafael Sierra Fernández

Director de Enseñanza



Dirección de Enseñanza

Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez"

Dr. Diego Araiza Garaygordobil

Director de Tesis

Médico Adscrito a la Unidad Coronaria

Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez"

Jorge Alberto Vega Gómez

Residente de Tercer Año de Cardiología

Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez"



Dedicatoria

A mi madre Yolanda, y a mi padre Jorge. Gracias a su cariño y apoyo a través de los años me han permitido lograr mis metas. Me han enseñado el camino para ser mejor persona cada día.

Agradecimientos

Al Dr. Fausto Sánchez y a Mario Peña del Laboratorio de Inmunología, por su ayuda para concluir este trabajo de investigación, por su disposición y su paciencia al enseñarme los aspectos del procesamiento y análisis de las muestras.

Al Dr. Diego Araiza, por su confianza en mí para la realización de este proyecto además de sus contribuciones académicas en mi formación como cardiólogo durante mi estancia en este Instituto.

A las doctoras Nallely Belderrain y Vianney Sarabia, y los doctores Luis Fernando de los Ríos y Maximiliano Ruiz, por su trabajo y esfuerzo para el desarrollo de este proyecto de investigación.

CONTENIDOS

Introducción	5
Marco teórico	5
Cardiopatía isquémica	5
Ectasia Coronaria	5
Aterosclerosis	8
Micro-RNA	9
Micro-RNA y Enfermedad Coronaria Aterosclerótica	10
Micro-RNA y Síndrome Coronario Agudo	11
Micro-RNA y Ectasia Coronaria	12
Justificación	13
Hipótesis	14
Objetivos	14
Principal	14
Secundario	14
Material y Métodos	15
Diseño del estudio	15
Población y muestra	15
Criterios de inclusión	15
Criterios de exclusión	16
Métodos	16
Variables del estudio	16
Análisis estadístico	19
Resultados	21
Cuadro 1. Características de los pacientes	21
Figura 1: Valor de p de Ct miR-133b	23
Figura 2: Valor de p de $2^{\Delta\Delta Ct}$ de miR-133b	25
Discusión	26
Conclusiones	30
Anexos	31
Anexo1: Ct de los miRNA analizados	31
Anexo 2: $2^{\Delta\Delta Ct}$ de los miRNA analizados	32
Anexo 3: Consentimiento informado del protocolo OVERTIME	34
Referencias	36

Introducción

La presencia de Ectasia Coronaria en el contexto de Síndrome Coronario Agudo se presenta en aproximadamente 5% de los casos. El encontrarla supone un reto para el tratamiento por la ausencia de consensos en lineamientos de tratamiento. Además, existe una necesidad no satisfecha en cuanto a marcadores que se puedan utilizar para el pronóstico de estos pacientes. Recientemente se ha encontrado la medición de la expresión génica como marcador diagnóstico y pronóstico en diferentes enfermedades, incluidas las cardiovasculares.

Marco teórico

Cardiopatía isquémica

A pesar de los avances científicos desarrollados para el manejo de la Enfermedad Cardiovascular, ésta representa actualmente la primera causa de muerte a nivel mundial. La Cardiopatía Isquémica es la etiología de cerca de la mitad de los casos mortales de Enfermedad Cardiovascular (1).

Inicialmente se reconocía a la ruptura de una placa aterosclerótica como la única causa de los síndromes coronarios agudos. Con las nuevas modalidades de imagen intracoronaria, se han logrado identificar otras causas como: erosión de la placa, nódulos calcificados, disección coronaria, infarto al miocardio con enfermedad no obstructiva (MINOCA) y ectasia coronaria (2).

Ectasia Coronaria

La dilatación aneurismática de las arterias coronarias (Ectasia Coronaria, EC) es encontrada en aproximadamente 5% de los pacientes a quienes se les realiza una

coronariografía, y su forma de presentación varía desde ser hallados incidentalmente en pacientes asintomáticos hasta ser la causa de síndromes coronarios agudos (3).

Se han utilizado en la literatura los términos “aneurisma” y “ectasia” de manera intercambiable; ambas describen la dilatación anormal del vaso sanguíneo, sin embargo se refieren a 2 fenotipos diferentes de la enfermedad (4).

Un aneurisma coronario se define como aquella dilatación focal que excede al menos 1.5 veces el tamaño de los segmentos adyacentes considerados como normales. Los aneurismas se dividen en saculares (el diámetro transversal es mayor al longitudinal) y fusiformes (el diámetro longitudinal es mayor que el transversal).

Los aneurismas mayores a 20mm de diámetro se consideran como “gigantes” (5).

El término de ectasia se utiliza para describir lesiones más difusas (5). A su vez, se utiliza la clasificación de Markis para tipificar la presencia de ectasia coronaria (6):

- Tipo 1: Ectasia difusa de 2 o 3 vasos
- Tipo 2: Ectasia difusa en 1 vaso y enfermedad localizada en otro vaso
- Tipo 3: Ectasia difusa de 1 vaso
- Tipo 4: Ectasia localizada o segmentaria

Por frecuencia, la presencia de EC afecta más a la arteria coronaria derecha (40%), seguida de la arteria descendente anterior (32%) y el tronco de la coronaria izquierda (3.5%)(7). La ECA que tiene como etiología a la aterosclerosis o vasculitis afecta primordialmente a más de una arteria coronaria. Las de etiología congénita o iatrogénica comúnmente tienen afectación de un solo vaso (3).

Aunque la fisiopatología de la EC no está completamente dilucidada, existe un número creciente de evidencia que asocia factores de riesgo con su desarrollo. Abou-Sherif et al sugieren una susceptibilidad genética en pacientes con presencia de EC congénita (8). Algunas condiciones inflamatorias (vasculitis, enfermedad de Kawasaki) o enfermedades del tejido conectivo (Marfan) se han asociado con la presencia de EC (9). También se ha reportado el desarrollo de EC de manera

iatr6gena, tras la intervenci6n coronaria (angioplastia con bal6n o stent, braquiterapia) (10).

Ovali C *et al* en un an6lisis de 418 pacientes con EC y enfermedad coronaria obstructiva encontraron que la presencia ambas patologas era mayor que la de EC sin lesiones obstructivas (con mayor asociaci6n entre aneurismas, en comparaci6n con ectasia) (11). De manera similar, Demopoulos *et al* en un estudio retrospectivo donde se analizaron 368 pacientes con EC y enfermedad coronaria obstructiva, sus resultados mostraron similitudes en las caracteristicas cl6nicas (antecedente de infarto del miocardio, tolerancia al ejercicio, severidad de la obstrucci6n coronaria y distribuci6n de vasos afectados) entre los grupos de EC y enfermedad obstructiva y el de enfermedad obstructiva (12). Los resultados de ambos estudios sugieren una misma etiologas para el desarrollo de los dos tipos de enfermedad coronaria (EC y lesiones obstructivas), proponiendo a la aterosclerosis como la causa en com6n. La mayor proporci6n de casos de EC son un hallazgo incidental durante la evaluaci6n con angiografas coronaria o en tomografas. Sin embargo, los pacientes pueden desarrollar s6ntomas cl6nicos como s6ndromes coronarios agudos o cr6nicos (13). Aunque la angiografas coronaria sigue siendo el m6todo m6s frecuentemente utilizado para el diagn6stico y la evaluaci6n de la EC, los avances en la tomografas de coronarias, ultrasonido intravascular coronario (IVUS) y tomografas de coherencia 6ptica han permitido una mejor caracterizaci6n del espectro de la enfermedad (14).

El manejo de la EC es, por varias razones, un reto para el cl6nico. Se desconoce la historia natural de la EC en pacientes asintom6ticos para tomar la decisi6n de c6mo y cu6ndo tratarlos; los pacientes con s6ndromes coronarios agudos que requerir6n tratamiento intervencionista o quir6rgico presentan mayor dificultad t6cnica para ambas opciones; adem6s de que al ser relativamente infrecuente, las recomendaciones de tratamiento son derivadas de estudios con un n6mero peque1o de pacientes en quienes no se realiz6 aleatorizaci6n (3).

Ateroesclerosis

La mayor proporción de los síndromes coronarios tiene como etiología a la ateroesclerosis. En el caso de los infartos agudos del miocardio, una interrupción del flujo sanguíneo coronario es condicionada por la ruptura de una placa ateroesclerosa y la subsecuente formación de trombo intraluminal (1,15). Por lo general, la formación de lesiones ateroescleróticas se encuentran en sitios de ramificación de los vasos arteriales, donde existe una limitación al flujo laminar y se genera un estrés de rozamiento sobre la pared del vaso (*shear stress*) (16).

La ateroesclerosis es un proceso complejo y multifactorial que culmina en la formación de lesiones subendoteliales en la pared de las arterias de grande y mediano calibre. El proceso crucial para aterogénesis es la acumulación subendotelial de lípidos, en mayor parte de lipoproteínas de baja densidad (*low density lipoprotein, LDL*) (17).

La aterogénesis requiere de una pérdida de la integridad endotelial, aunado a factores pro-inflamatorios y pro-trombóticos. La acumulación de LDL subendotelial causa reacciones inflamatorias mediadas por macrófagos, linfocitos B y linfocitos T, lo que conduce a la formación, progresión y finalmente ruptura de la placa ateroesclerótica (18).

Debido a que la ateroesclerosis es un proceso de lenta progresión, no es clínicamente evidente hasta que se alcanza un grado significativo de obstrucción del vaso o cuando existe ruptura de la placa (19).

Si bien la prevalencia de lesiones ateroescleróticas significativas es mayor en grupos de edad avanzada, se ha demostrado la presencia de lesiones en grupos de niños y jóvenes adultos con prevalencia en algunas series de hasta el 100% (20,21). Por lo tanto, es importante el desarrollo de marcadores para la detección oportuna del proceso ateroesclerótico. Dentro de éstos, se encuentran los micro-RNA (miRNA).

Micro-RNA

Los micro-RNA (miRNA) son ácidos ribonucleicos (*ribonucleic acid, RNA*) endógenos de cadena sencilla, no codificantes, en promedio de 22 nucleótidos de longitud (22). Fueron descubiertos por primera vez en el año 1993 en el genoma del nemátodo *C. Elegans*, y desde entonces se han identificado más de 2500 miRNAs en el genoma humano (23). Están implicados en la regulación post-transcripcional de los genes, reprimiendo su expresión mediante los mecanismos (24):

- Degradación de la proteína durante la traducción de RNAm
- Interferencia de la traducción de RNAm (inhibición de la elongación, terminación prematura o inhibición de la iniciación)

Los miRNA ejercen su función mediante el apareamiento de bases en la región no codificante (*untranslated region, UTR*) en el extremo 3' del RNAm (25). La mayoría de los miRNA se encuentran en los intrones de los genes codificadores de proteínas (26), controlando aproximadamente el 30% de ellos (27). Para lograr su respuesta biológica, los miRNA deben activar varios sitios de unión con el RNAm diana; esto es, que la unión de un solo miRNA no produce efectos significativos. Además, un RNAm puede estar regulado por varios miRNA a la vez (24).

La mayoría de los miRNA se localizan en el espacio intracelular, pero algunos se encuentran en el plasma asociados a proteínas como: Argonauta2 (Ago2), Nucleofosmina1 y la lipoproteína de alta densidad (*high density lipoprotein, HDL*) (23). Además, se ha demostrado la detección de miRNAs circulantes de manera libre en el plasma, obtenidos mediante ultracentrifugación, fraccionamiento y filtrado de muestras de sangre periférica (28).

Se utiliza un sistema de nomenclatura para casi todos los miRNA, a excepción de los que fueron encontrados tempranamente. Dicho sistema consiste del prefijo "miR", seguido de un número identificador separado por un guión (ejemplo: "miR-1"). En algunos casos se agrega una letra minúscula después del número identificador cuando dos o más miRNAs tienen secuencias similares pero difieren en uno o dos

nucleótidos (ejemplo: miR-1a, miR-1b). Si dos o más precursores de miRNA (conocidos como *pre-miRNA*) se localizan en diferentes sitios del genoma pero dan origen a un mismo miRNA maduro, se agregará un segundo guión y otro número identificador al final (ejemplo: miR-1-1, miR-1-2) (29).

Se han reconocido diferentes grupos de miRNA como reguladores de varios procesos biológicos, incluyendo pero no limitándose a el crecimiento celular, proliferación, diferenciación senescencia, angiogénesis y apoptosis (30).

De la misma manera, se ha estudiado la disregulación de los miRNA en varios estados patológicos, entre ellos la aterosclerosis (31), y el amplio espectro de las enfermedades cardiovasculares (23).

Micro-RNA y Enfermedad Coronaria Aterosclerótica

Como fue mencionado anteriormente, los miRNA juegan un papel importante en los procesos de disregulación que culminan en la aterogénesis (afectación de la integridad endotelial y del funcionamiento del músculo liso vascular, inflamación y alteración de la homeostasis del colesterol), ya sea asociados a efectos deletéreos o a efectos protectores (22), que culminan en el desarrollo de enfermedad coronaria.

- Función endotelial: disregulación de células progenitoras endoteliales (miR-221), supresión de angiogénesis por bloqueo del receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular (*vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR2*) y del receptor 1 del factor de crecimiento fibroblástico (*fibroblastic growth factor receptor 1*) (miR-129-1, miR-133); protección en contra de efectos deletéreos inducidos por el *shear stress* (miR-92a, miR-19a).
- Senescencia endotelial: regulación de la longevidad y función de células endoteliales (miR-134a, miR-217).
- Apoptosis endotelial: inhibición de la apoptosis (miR-126), promoción de apoptosis (miR-132, miR-223).

- Retención de lípidos e inflamación: disminución en la captación de LDL oxidado y de la respuesta inflamatoria (miR-146a), aumento en el consumo de LDL por macrófagos (miR-125a-5p), regulación de la actividad inflamatoria mediada por macrófagos (miR-155).
- Función del músculo liso vascular: cambio de fenotipo contráctil hacia un estado proliferativo (miR-145), calcificación del músculo liso vascular (miR-29a, miR-29b).
- Metabolismo del colesterol: inhibición del transportador asociado a ATP (*ATP-binding cassette transporter, ABCA1*) y reducción del flujo de colesterol hacia la apolipoproteína ApoA-I (miR-33a y .miR-33b); aumento en la oxidación de ácidos grasos a nivel hepático y reducción en la síntesis de colesterol (miR-122).

Micro-RNA y Síndrome Coronario Agudo

Se ha descrito la asociación del nivel de expresión de miR-133 y el aumento de mortalidad en SICA (32, 33), así como con el tamaño del miocardio con isquemia en SICA (34). Se ha encontrado también la relación de su expresión aumentada en pacientes con enfermedad coronaria demostrada pero que no han desarrollado SICA (35, 36). Un estudio asoció la expresión de miR133b junto con otros miRNA como marcadores de placas ateroscleróticas inestables, proponiéndolo como marcados de vulnerabilidad de la placa (37).

Otros miRNA, cuya expresión esta asociada a SICA son:

- miR-1, su expresión está aumentada y se asoció con empeoramiento de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) (32, 38).
- miR-208, su expresión correlacionó con el desarrollo de insuficiencia cardiaca y aumento en mortalidad (32, 39).

- miR-21, el grado de expresión fue predictor de FEVI posterior al desarrollo de SICA (32, 40), además de estar asociado a la proliferación de células de músculo liso vascular y a la progresión de lesiones ateroscleróticas (41).
- miR-155 contribuye al proceso inflamatorio que promueve la progresión de las lesiones ateroscleróticas (42), y se ha encontrado disminuida su expresión en pacientes con presencia de enfermedad coronaria y que no han desarrollado SICA (35, 43) y asociado al pronóstico en SICA (35).
- miR-126 reduce el contenido de células inflamatorias en las placas ateroscleróticas y se ha encontrado asociado a reducción del tamaño de la placa (44).

Micro-RNA y Ectasia Coronaria

Hasta el momento de nuestra investigación, no se encuentra en la literatura un estudio donde se estudie a expresión génica mediante la determinación de miRNA en Ectasia Coronaria.

Justificación

La cardiopatía isquémica continúa siendo la primera causa de muerte a nivel mundial. Dentro de los síndromes coronarios, aproximadamente el 5% de los pacientes tendrán Ectasia Coronaria (EC). A pesar de ser un bajo porcentaje, la alta prevalencia de cardiopatía isquémica supone que la EC tenga a su vez un importante número de casos. Sin embargo, aún existen falta lineamientos específicos para el tratamiento y diagnóstico oportuno.

La aterosclerosis es la principal causa de enfermedad coronaria, tanto obstructiva como EC. Existen reportes en la literatura con hallazgos de lesiones ateroscleróticas incluso en grupos de adultos jóvenes, por lo que se requieren de biomarcadores para el reconocimiento temprano de la enfermedad. Uno de los métodos propuestos para tal objetivo, es identificar la expresión génica de las enfermedades, en este caso, de la Ectasia Coronaria.

Los micro-RNA (miRNA) se han encontrado como reguladores de procesos celulares fisiológicos y patológicos. Un número creciente de evidencia los propone como marcadores identificables en el plasma de pacientes con diversas patologías, como la aterosclerosis y enfermedad coronaria.

Se propone la identificación de la expresión génica mediante identificación de miRNA en pacientes con enfermedad coronaria ectásica.

Hipótesis

- Hipótesis nula: La expresión génica de microRNA asociados a procesos de aterogénesis, en pacientes con Ectasia Coronaria, no difiere de manera significativa a la encontrada en pacientes con Enfermedad Coronaria Obstructiva.
- Hipótesis alterna: La expresión génica de microRNA asociados a procesos de aterogénesis, en pacientes con Ectasia Coronaria, difiere significativamente a la encontrada en pacientes con Enfermedad Coronaria Obstructiva.

Objetivos

Principal

- Determinar la expresión génica de miRNA presentes en pacientes con y sin Ectasia Coronaria en el contexto de Síndrome Coronario Agudo mediante el método de $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

Secundario

- Describir las características demográficas, clínicas, y bioquímicas de los pacientes con y sin Ectasia Coronaria en el contexto de Síndrome Coronario Agudo.

Material y Métodos

Diseño del estudio

Se realizó un análisis de casos y controles prospectiva, con pacientes que acudieron a recibir atención al área de Urgencias y Unidad Coronaria del Instituto Nacional de Cardiología “Dr. Ignacio Chávez” (UCC-INCICH) por Síndrome Coronario Agudo (SICA) entre el 1 de Marzo de 2022 y el 30 de Junio de 2022.

Población y muestra

La población fueron pacientes de ambos sexo, mayores de 18 años, que acudieron a la UCC-INCICH con diagnóstico de SICA. La muestra fue no probabilística.

Criterios de inclusión

Se consideró como “casos” a aquellos pacientes con SICA y ectasia coronaria en la arteria responsable del infarto, derivado de los criterios de selección del ensayo clínico aleatorizado *“Doble terapia antiplaquetaria versus anticoagulación y antiplaquetarios en pacientes con síndrome coronario agudo y ectasia coronaria: OVERTIME”* (Clinical Trials.gov identifier NCT05233124; Aprobación del comité de ética de INCICH PT21-1248). Se considera como “ectasia” a la dilatación difusa de un segmento coronario, mayor a 1.5 veces el diámetro de los segmentos adyacentes considerados como normales.

Los “controles” fueron aquellos pacientes con SICA y sin ectasia coronaria en la arteria responsable del infarto, derivado de los criterios de selección del registro *“Evaluación de la estrategia farmacoinvasiva versus angioplastia coronaria transluminal percutánea primaria en pacientes con infarto agudo de miocardio con*

elevación del segmento ST en el Instituto Nacional de Cardiología (PHASE-MX)”
(ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03974581 Aprobación del comité de ética de INCICH PT 19-109).

Criterios de exclusión

Pacientes con diagnóstico de SICA, sin presencia de lesiones coronarias obstructivas ni ectasia coronaria en la arteria responsable del infarto, o a quienes no se les haya realizado coronariografía.

Ausencia de firma del consentimiento informado para el estudio OVERTIME.

Métodos

Se registraron los casos de pacientes con diagnóstico de Síndrome Coronario Agudo (SICA) y con ectasia coronaria o lesiones obstructivas en la coronariografía.

Variables del estudio

VARIABLE	TIPO DE VARIABLE Y ESCALA	UNIDADES
<i>Sexo</i>	Cualitativa dicotómica	1: mujer, 2: hombre
<i>Edad</i>	Cuantitativa continua	Años
<i>Hipertensión Arterial</i>	Cualitativa dicotómica	0: no, 1: si
<i>Diabetes Mellitus tipo 2</i>	Cualitativa dicotómica	0: no, 1: si
<i>Dislipidemia</i>	Cualitativa dicotómica	0: no, 1: si
<i>Tabaquismo</i>	Cualitativa dicotómica	0: no, 1: si

<i>Obesidad</i>	Cualitativa dicotómica	0: no, 1: si
<i>Infarto previo</i>	Cualitativa dicotómica	0: no, 1: si
<i>Tipo de SICA</i>	Cualitativa	1: Infarto agudo de miocardio con elevación del ST, 1: Infarto agudo de miocardio sin elevación del ST, 3: Angina inestable
<i>Arteria afectada</i>	Cualitativa	1: Tronco coronaria izquierda, 2: Descendente anterior, 3: Circunfleja, 4: Coronaria derecha
<i>Presencia de Ectasia Coronaria</i>	Cualitativa dicotómica	0: no, 1: si
<i>Clasificación de Markis</i>	Cualitativa categórica	1: Ectasia difusa de dos o tres vasos, 2: Ectasia difusa en un vaso y enfermedad localizada en otro vaso, 3: Ectasia difusa de un vaso, 4: Ectasia localizada o segmentaria
<i>Presencia de aneurisma coronario</i>	Cualitativa dicotómica	0: no, 1: si
<i>Fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI)</i>	Cuantitativa continua	%
<i>TA sistólica</i>	Cuantitativa continua	mmHg
<i>TA diastólica</i>	Cuantitativa continua	mmHg
<i>Frecuencia cardíaca</i>	Cuantitativa continua	Latidos por minuto (lpm)
<i>Frecuencia respiratoria</i>	Cuantitativa continua	Respiraciones por minuto (rpm)
<i>Hemoglobina</i>	Cuantitativa continua	g/dL
<i>Plaquetas</i>	Cuantitativa continua	Unidades celulares (1000/microlitro)
<i>Leucocitos</i>	Cuantitativa continua	Unidades celulares (1000/microlitro)
<i>Creatinina</i>	Cuantitativa continua	mg/dL
<i>BUN</i>	Cuantitativa continua	mg/dL
<i>Glucosa</i>	Cuantitativa continua	mg/dL
<i>Troponina T</i>	Cuantitativa continua	pg/mL

<i>NT pro-BNP</i>	Cuantitativa continua	pg/mL
<i>Proteína C reactiva</i>	Cuantitativa continua	mg/L
<i>Hb glucosilada A1c</i>	Cuantitativa continua	%
<i>Albúmina</i>	Cuantitativa continua	g/dL
<i>Colesterol total</i>	Cuantitativa continua	mg/dL
<i>Colesterol LDL</i>	Cuantitativa continua	mg/dL
<i>Triglicéridos</i>	Cuantitativa continua	mg/dL
<i>Clasificación Killip y Kimball</i>	Cualitativa categórica	1: Sin signos o síntomas de insuficiencia cardiaca, 2: Estertores, tercer ruido o aumento de presión venosa central, 3: Edema agudo de pulmón, 4: Choque cardiogénico
<i>Puntuación TIMI</i>	Cuantitativa continua	Puntos. Descripción de la puntuación: Edad: (<65 años = 0 puntos, 65-74 años = 1 punto, >75 años = 2 puntos); Presencia de diabetes, hipertensión o angina = 1 punto; Presión arterial sistólica <100mmHg = 3 puntos; Clase Killip y Kimball 2-4 = 2 puntos; Peso <67kg = 1 punto; Elevación del ST anterior o Bloqueo de rama izquierda = 1 punto; Tiempo al tratamiento >4hr = 1 punto.
<i>Puntuación GRACE</i>	Cuantitativa continua	Puntos. Descripción de la puntuación: Edad (<30 años = 0 puntos, 30-39 años = 8 puntos, 40-49 años = 25 puntos, 50-59 años = 41 puntos, 60-69 años = 58 puntos, 70-79 años = 75 puntos, 80-89 años = 91 puntos, >90 años = 100 puntos); Frecuencia cardiaca (<50 lpm = 0 puntos, 50-59 lpm = 3 puntos, 70-89 lpm = 9 puntos, 90-109 lpm = 15 puntos, 110-149 lpm = 24 puntos, 150-199 lpm = 38 puntos, >200 lpm = 46 puntos); Presión arterial sistólica

		(<80mmHg = 58 puntos, 80-99mmHg = 53 puntos, 100-119mmHg = 43 puntos, 120-139 = 34 puntos, 140-159mmHg = 24 puntos, 160-199mmHg = 10 puntos, >200mmHg = 0 puntos); Creatinina (0-0.30mg/dL = 1 punto, 0.4-0.79mg/dL = 4 puntos, 0.8-1.19mg/dL = 7 puntos, 1.2-1.59mg/dL = 10 puntos, 1.6-1.99mg/dL = 13 puntos, 2-3.99mg/dL = 21 puntos, >4mg/dL = 28 puntos); Clase Killip y Kimball (1 = 0 puntos, 2 = 20 puntos, 3 = 39 puntos, 4 = 59 puntos); Paro cardiaco al ingreso = 39 puntos; Desviación del segmento ST = 28 puntos; Elevación de enzimas cardiacas = 14 puntos.
--	--	--

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el programa *STATA v13* (StataCorp LP, College Station, TX).

Se realizó un análisis descriptivo de las variables cuantitativas, dependiendo de su normalidad, corroborada por la prueba de *Shaphiro-Wilk*, se describieron con media y desviación estándar (variables paramétricas), o con mediana y rangos intercuartilares (variables no paramétricas).

Tomando en cuenta la normalidad, se realizó un análisis bivariado para las variables cuantitativas por medio de la prueba *t de Student* o *U de Mann-Whitney*, según correspondiera.

Las variables cualitativas se describieron por medio de frecuencias y porcentajes, para su análisis bivariado se utilizó la prueba de *Chi cuadrada* (χ^2) o la prueba exacta de Fisher, dependiendo del número de eventos recopilados.

En todos los análisis, se consideró como significativo un valor de $p < 0.05$.

La cuantificación de los microRNA se realizó de la siguiente manera: se utilizó RNA aislando a partir de 200 μ L de plasma con el reactivo de aislamiento de microRNAs

miRNeasy serum/plasma para la detección de miRNAs cuya asociación con enfermedad coronaria aterosclerótica y SICA han sido reportados con anterioridad (miR-1, miR-20-b, miR-126, miR-133b, miR-155, miR-208), utilizando reactivos y protocolos para el *TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kit* y el *TaqMan MicroRNA Assay (Applied Biosystems)*. Las reacciones de RT-PCR se realizaron con cebadores de tallo-asa personalizados (*Applied Biosystems*) específicos para la secuencia madura correspondiente obtenida de miRBase (<http://www.miRBase.org>).

La amplificación de reacciones de cationes se realizó utilizando el sistema de PCR en tiempo real CFX96 (*BIORAD*). Los datos de la RT-PCR cuantitativa se analizaron utilizando el método del ciclo de umbral comparativo ("*Cycle threshold*", *Ct*), con miR-16⁽⁴⁵⁾ como la referencia endógena para el plasma ("*housekeeping*").

La cantidad de miRNA fue calculada por la fórmula aritmética $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ⁽⁴⁶⁾, donde *Ct* representa el punto en el que la fluorescencia de la reacción del ensayo TaqMan superó el límite del umbral. ΔCt es la diferencia en los valores de *Ct* entre el miRNA de interés y los controles miR-16. $\Delta\Delta Ct$ es el resultado de la resta de el *Ct* de miR-16 menos el ΔCt de cada miRNA. Los niveles de expresión relativos (es decir, normalizados a los niveles de miR-16 en la misma muestra) son, por definición, valores sin unidades.

Resultados

El total de la población estudiada fueron 47 pacientes, 24 de ellos con Ectasia Coronaria y 23 con presencia de Enfermedad Coronaria Obstructiva, de los cuales la edad promedio fue 61 ± 11 años, el 76% fueron de sexo masculino, la prevalencia de Hipertensión Arterial Sistémica fue de 57.5%, de Diabetes Mellitus tipo 2 fue 63.8%, y de Dislipidemia fue 29.7%.

El cuadro 1 resume las características para ambos grupos de pacientes.

Cuadro 1. Características de los pacientes

Variable de interés	No ectasia (n=23)	Ectasia (n=24)	Valor p
Sexo masculino (%)	19 (82.6)	17 (70.8)	0.34
Edad, años (\pm DE)	60 (12)	61 (11)	0.8
Factores de riesgo cardiovascular			
Hipertensión arterial sistémica (%)	13 (56.5)	17 (70.8)	0.30
Diabetes tipo 2 (%)	16 (69.5)	11 (45.8)	0.1
Dislipidemia (%)	9 (39.1)	5 (20.8)	0.17
Tabaquismo (%)	9 (39.1)	15 (62.5)	0.10
Obesidad (%)	5 (21.7)	12 (50)	0.04
Historia cardiovascular			
Antecedente de Infarto (%)	4 (17.3)	2 (8.3)	0.35
Diagnóstico de admisión			
Clasificación de Síndrome Coronario Agudo			
IAM CEST	16 (69.5)	15 (62.5)	
IAM SEST	7 (30.4)	7 (29.1)	
Angina Inestable	0 (0)	2 (8.33)	
Características angiográficas			
Arteria afectada			
TCI	2 (8.7)	4 (16.6)	0.41
DA	19 (82.6)	14 (58.3)	0.06
CX	12 (52.1)	14 (58.3)	0.67
CD	13 (56.5)	16 (66.6)	0.47

Clasificación de MARKIS			
1	N/A	11 (47.8)	N/A
2	N/A	2 (8.7)	N/A
3	N/A	8 (34.7)	N/A
4	N/A	2 (8.7)	N/A
Aneurisma	N/A	2 (8.7)	N/A
Características clínicas			
FEVI %, (\pm DE)	41 (12)	52 (11)	0.01
TAS (RIQ)	142 (116-160)	137 (113-149)	0.37
TAD (RIQ)	80 (70-90)	79 (70-89)	0.97
Frecuencia cardiaca (RIQ)	80 (70-97)	73.5 (64-93)	0.06
Frecuencia respiratoria (RIQ)	18 (18-20)	18 (16-20)	0.14
Hemoglobina (RIQ)	15 (12.7-16.1)	15.4 (14.6-17.4)	0.32
Plaquetas (RIQ)	236 (200-274)	237 (192-275)	0.62
Leucocitos (RIQ)	10.1 (8.1-13.3)	11.5 (8.3-12.9)	0.54
Creatinina (\pm DE)	1.09 (0.26)	1.15 (0.93)	0.43
BUN, mediana (RIQ)	17.9 (12.5-25)	17.9 (12.5-25)	1.0
Glucosa (RIQ)	158 (144-291)	156 (118-190)	0.48
Troponina T (RIQ)	1280 (235-4427)	633 (181-7565)	0.97
NTproBNP (RIQ)	1668 (574-5079)	897 (175-3541)	0.24
PCR (RIQ)	10.1 (2.2-48)	9.1 (3.7-64.5)	0.8
Hb A1c (RIQ)	6.8 (6.1-8.8)	6.3 (5.9-7.5)	0.45
Albúmina (\pm DE)	3.8 \pm 0.4	3.9 \pm 0.5	0.7
Colesterol total (RIQ)	151 (125-191)	141 (123-164)	0.71
Colesterol LDL (RIQ)	94.3 (61-111)	84.1 (65.9-106)	0.63
Triglicéridos (RIQ)	137 (91-184)	126 (92.1-159)	0.5
Escala pronóstica			
Killip y Kimball			
I	12 (52.1)	15 (62.5)	
II	9 (39.1)	9 (37.5)	
III	1 (4.35)	0 (0)	
IV	1 (4.35)	0 (0)	
Killip y Kimball \geq 2	11 (47.8)	9 (37.5)	0.47
TIMI, mediana (RIQ)	4 (2-5)	3 (2-4)	0.51
GRACE (RIQ)	105 (99-139)	114.5 (82.5-140)	0.33

DE, desviación estándar; IAMCEST, infarto agudo al miocardio con elevación del segmento ST; IAMSEST, infarto agudo al miocardio sin elevación del segmento ST; FEVI, fracción de expulsión del ventrículo izquierdo; TAS, tensión arterial sistólica; TAD, tensión arterial diastólica; BUN, nitrógeno uréico en sangre; NTproBNP, propéptido natriurético cerebral N-terminal; HbA1c, hemoglobina glicosilada; LDL, lipoproteína de baja densidad; TIMI, Thrombolysis in Myocardial Infarction; GRACE, Global Registry on Acute Coronary Events.

Para el análisis del objetivo primario se determinaron los *Ct* de cada miRNA estudiado para cada paciente. Los resultados se muestran recopilados en la tabla del Anexo 1.

Con los datos obtenidos, se calcularon para ambos grupos la media, la desviación estándar y la media de error estándar. Los resultados fueron analizados con la prueba de *t de Student* utilizando la plataforma del software *SPSS* (IBM).

Se seleccionaron los resultados del análisis de *miR-133b*, ya que mostraron los siguientes valores:

Prueba de muestras independientes										
		Prueba de Levene (igualdad de varianzas)		Prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
<i>Ct</i>	Se asumen varianzas iguales	0.16	0.69	-2.07	45	0.044	-0.63	0.30	-1.25	-0.01
	<i>miR-133b</i> No se asumen varianzas iguales			-2.08	42.82	0.043	-0.63	0.30	-1.25	-0.02

La Figura 1 muestra la representación gráfica del valor de *p* obtenido para el *Ct* de *miR-133b*.

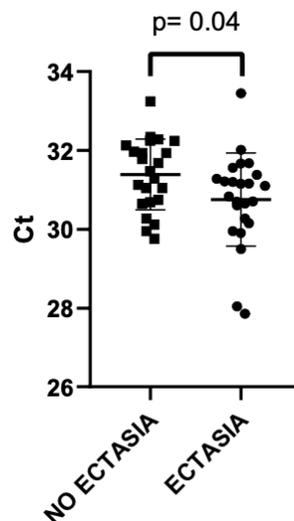


Figura 1: Valor de *p* de *Ct* *miR-133b*

Siguiendo los pasos del método de $\Delta\Delta Ct$, se calcularon primero los ΔCt para cada paciente, siendo ésta cifra la diferencia en los valores de Ct entre el miRNA de interés y los controles miR-16.

Posteriormente, para el cálculo de $\Delta\Delta Ct$ se realizó la diferencia entre los valores de miR-16 de cada paciente menos el valor promedio de ΔCt para cada miRNA.

El paso final del método de $\Delta\Delta Ct$, es calcular la proporción de la expresión génica (*fold gene expression*) de cada miRNA. Este valor se calcula elevando el número 2 a la potencia equivalente al negativo del resultado de $\Delta\Delta Ct$. Lo anterior corresponde a la fórmula:

$$2^{-(\Delta\Delta Ct)}$$

La tabla del Anexo 2 muestra los valores de la proporción de la expresión génica para cada miRNA (calculado con $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$).

Al igual que con los datos de Ct , se realizó la prueba de *t de Student* utilizando la plataforma del software SPSS (IBM). Se muestran los resultados del análisis de *miR-133b*.

Prueba de muestras independientes										
		Prueba de Levene (igualdad de varianzas)		Prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
$2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ <i>miR-133b</i>	Se asumen varianzas iguales	12.14	0.001	1.93	45	0.060	6.29	3.25	-0.26	12.84
	No se asumen varianzas iguales			1.97	23.10	0.060	6.29	3.18	-0.29	12.87

La Figura 2 muestra la representación gráfica del valor de p obtenido para el $2^{\Delta\Delta Ct}$ de miR-133b.

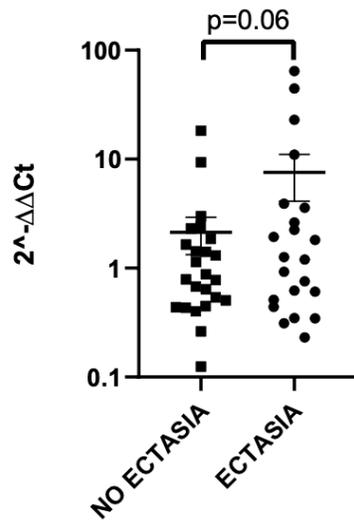


Figura 2: Valor de p de $2^{\Delta\Delta Ct}$ de miR-133b

Discusión

La cardiopatía isquémica continúa siendo la primera causa de mortalidad a nivel internacional. Su máxima expresión es el síndrome coronario agudo (SCA). La ectasia coronaria es un tipo de enfermedad coronaria que puede llegar a desencadenar SCA. Los objetivos de atención médica de este síndrome, además de la atención temprana y la prevención de complicaciones, se centra en el control de factores de riesgo cardiovasculares clásicos y trata de buscar marcadores tempranos asociados a un pronóstico adverso en los pacientes.

Derivado de la evidencia existente en la literatura, que reporta la asociación de la expresión génica de ciertos miRNA con patologías cardiovasculares y su pronóstico, en específico de síndrome coronario agudo, desarrollamos el presente análisis. Nuestro objetivo primario tuvo éxito en demostrar el aumento en la expresión génica de *miR-133b*, el cual ha sido asociado con pronóstico adverso en pacientes con enfermedad coronaria y SCA. Señalamos que no se encuentra al momento de la realización de este trabajo de investigación el análisis de expresión génica de miRNA en ectasia coronaria.

La población analizada en este estudio contó en su mayoría con factores de riesgo cardiovascular clásicos (Obesidad, Tabaquismo, Hipertensión Arterial, Diabetes Mellitus tipo 2 y Dislipidemia). La edad promedio corresponde a la esperada para el desarrollo de esta enfermedad. En la cohorte se encontró un porcentaje no despreciable de pacientes con historia de infarto previo, esto se puede explicar ya que el instituto donde se desarrolla el trabajo es un centro nacional de referencia y cuenta con un mayor número de pacientes, además de centrarse casi en su totalidad a patologías cardiovasculares y cuya población por lo general ya cuenta con algún antecedente cardiovascular al momento del inicio de la atención en el departamento de urgencias.

Entre los resultados de nuestro estudio, en las características clínicas de los grupos destacó la diferencia significativa en el antecedente de Obesidad, siendo más prevalente en el grupo de pacientes con Ectasia Coronaria. Dentro de las

características clínicas medidas, el grupo de pacientes sin ectasia resultó con FEVI menor comparado con el grupo de ectasia, siendo estadísticamente significativo. El resto de las variables clínicas, bioquímicas, y el historial previo de los pacientes no difirió significativamente entre ambos grupos. Esto refuerza los hallazgos de nuestro estudio, al no encontrar grandes confusores que pudieran sesgar la interpretación de la diferencia encontrada en la expresión génica.

Encontramos una mayor proporción de infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST en ambos grupos, siendo cercano a dos terceras partes del total en ambas series. Se encontró una mínima proporción de angina inestable como diagnóstico de ingreso al área de urgencias.

Acerca de las arterias afectadas por ectasia, tuvimos resultados compatibles con los reportados en la literatura (7). Hubo una mayor proporción de afectación a la coronaria derecha y un mínimo involucro del tronco de la coronaria izquierda. Nuestros resultados difirieron a la evidencia internacional en el rubro de la afectación a la arteria descendente anterior, la cual fue afectada en la misma proporción que la arteria circunfleja en nuestro estudio. La clasificación de Markis más común fue la 1, con enfermedad difusa de más de 2 arterias coronarias.

La arteria más afectada en el grupo de la enfermedad coronaria obstructiva fue la arteria descendente anterior. Cabe señalar que en este grupo se reportaron todas las lesiones significativas, además de la lesión responsable del infarto (si es que hubieran más lesiones presentes en la coronariografía).

A pesar del criterio dicotómico de inclusión de los pacientes entre presencia o no de ectasia coronaria, existen pacientes con ambos tipos de lesiones. En la cohorte de pacientes analizados, no se encontró dicha situación, por lo que no se tuvo que eliminar ningún paciente para el análisis.

Se analizaron los niveles de Troponina, NTproBNP como variables exploratorias para buscar diferencia significativa entre ambos grupos, lo cual no fue encontrado en nuestro estudio. Además, se agregó la medición de PCR como subrogado de inflamación en estos pacientes; tampoco se encontró una diferencia significativa entre ambos grupos.

Se calcularon escalas pronósticas en los pacientes. Se encontró que la mayoría de los pacientes de ambos grupos se presentaron con una clasificación de Killip-Kimball (KK) entre 1 y 2. Al realizar el análisis con presencia de KK igual o mayor a 2, esto es, con signos de insuficiencia cardiaca o choque cardiogénico, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos.

Los análisis de TIMI y GRACE como predictores del pronóstico al ingreso de los pacientes, tampoco demostraron una diferencia significativa entre los grupos.

Se realizó el seguimiento de los pacientes hasta su egreso, buscando eventos de mortalidad. Se encontraron 2 defunciones intrahospitalarias en el grupo de ectasia. No hubo defunciones intrahospitalarias en el grupo sin ectasia. Al momento del análisis y redacción de este estudio, 4 pacientes del grupo sin ectasia permanecían hospitalizados, con una estancia mayor a 7 días. Por el periodo de seguimiento, no fue posible analizar la mortalidad a corto plazo (30 días) o a un plazo mayor.

En el análisis de objetivos primarios, el umbral de ciclo (C_t) de las muestras analizadas para miR-133b mostraron una diferencia significativa. Lo que representa la figura 1 del estudio es que el punto de umbral para los pacientes con ectasia es menor a los que no tenían ectasia, traduciéndose en que existe una mayor concentración *ergo* expresión de miR-133b en los pacientes con ectasia. Lo anterior pudiera tener significado en el desarrollo de SICA en pacientes con ectasia coronaria.

Los estudios de *Fichtlscherer et al* (35) y de *De Gonzalo-Calvo et al* (36) los niveles de miR-133b se han encontrado en pacientes con enfermedad coronaria pero que no han desarrollado SICA. Esto puede resultar útil como marcador en pacientes a quienes se les ha encontrado incidentalmente la presencia de ectasia coronaria pero sin SICA. La medición del cambio en la expresión génica mediante miRNA después de un tratamiento ha sido descrita en patologías como cáncer y respuesta a quimioterapia (47), así como en patologías cardiovasculares como respuesta al tratamiento médico (48), o tras intervenciones terapéuticas como ablación de arritmias (49), por lo que se vislumbra la posibilidad de agregar la medición de la expresión de miR-133b en pacientes con ectasia como seguimiento para guiar la terapia médica con el objetivo de prevenir el desarrollo de SICA o en pacientes

quienes ya lo desarrollaron, ya que pudiera ser otro marcador más para ayudar a la decisión acerca del tratamiento antiagregante o anticoagulante o el tratamiento intervencionista, ya que ambos son rubros con controversia para su manejo (3).

El estudio de *Cipollone et al* (37) asoció la expresión de miR-133b con la presencia de placas ateroscleróticas inestables. Dentro del tratamiento de los pacientes con ectasia coronaria y que desarrollaron SICA, se emplea el uso de estatinas. Al encontrar una mayor expresión de miR-133b en ectasia, se infiere que pudiera representar un ambiente inflamatorio coronario similar al fenotipo de “placa inestable”, por lo que pudiera requerir una extensión en el tiempo de tratamiento con estatinas de alta intensidad, o explorar la presencia de inflamación o el uso de medicamentos antiinflamatorios en este subgrupo de pacientes.

El método de delta-delta Ct ($\Delta\Delta Ct$) permite traducir los resultados antes mencionados a una proporción de expresión génica, esto es, la cantidad de veces más que se expresa el miRNA en la muestra probando (pacientes con ectasia) comparado con el grupo control (sin ectasia). Si bien no se alcanzó una diferencia estadísticamente significativa, muestra una tendencia hacia una $p < 0.05$, lo cual atribuimos al número de pacientes incluidos para el análisis y pudieran corroborarse al aumentar el número de muestra.

Otro miRNA que no alcanzó la diferencia estadística pero que también muestra tendencia a la significancia fue miR-155. Se propone que al aumentar la muestra también se obtenga una diferencia significativa.

Entre las fortalezas de nuestro estudio encontramos que además de ser el primer reporte de análisis de expresión génica de miRNAs en ectasia coronaria, se encontraron diferencias significativas con un número bajo de pacientes. Algunas de las debilidades fue el no poder analizar el seguimiento a corto y largo plazo, y el bajo número de pacientes ingresados para el análisis.

Conclusiones

En pacientes con Síndrome Coronario Agudo, la presencia de ectasia mostró una expresión génica estadísticamente diferente, específicamente de miR-133b, comparado con los pacientes sin ectasia coronaria.

Lo anterior pudiera suponer un fenotipo de aterosclerosis y “placa inestable”, lo cual puede tener implicaciones en el tratamiento. La expresión aumentada de miR-133b se ha asociado a un peor pronóstico en SICA, lo cual pudiera extrapolarse a la población con SICA y ectasia.

Se realiza el primer reporte de expresión génica de miR-133b en SICA y ectasia coronaria.

Se requieren futuros estudios para ampliar los hallazgos de este trabajo de investigación y proponer el uso de miR-133b como marcador pronóstico y de seguimiento en pacientes con SICA y ectasia coronaria.

Anexos

Anexo 1: Ct de los miRNA analizados

	<i>Ct</i>							
	miR-208	miR-208b	miR-1	miR-133b	miR-21	miR-155	miR-126	miR-16
ECT1	34.8543413	38.3672095	34.2343164	30.7062189	24.3721958	30.6790121	23.6426862	17.7453825
ECT2	34.0485609	38.3852363	31.2645636	29.9098942	22.9722826	30.5233422	22.9911051	15.5552597
ECT3	34.3419219	36.7219055	33.6945847	30.6132688	25.6801436	31.1916026	26.2192518	18.7095167
ECT4	34.343668	45.1344327	34.6743489	31.6697971	25.3220455	31.1605352	25.5242856	18.4607729
ECT5	34.477488	35.0159092	32.4591253	29.959491	23.9718275	30.4045236	23.7762138	17.0293453
ECT6	34.53941	38.7	34.0258758	31.2038318	24.9555325	31.1852767	25.5691198	18.8535162
ECT7	33.6769375	39.2845755	33.1866988	30.6536106	23.754927	30.9853925	24.2262862	16.8790633
ECT8	34.5368274	31.5514359	29.1775773	28.0517162	26.8170788	31.6336858	25.2917727	19.2696534
ECT9	34.4104357	37.051928	32.2919707	30.2781184	23.2799261	30.467931	23.2633754	16.3570201
ECT10	35.2317032	40.074794	35.5727343	31.2175208	29.5776269	31.8403387	28.9704903	23.4970258
ECT11	34.178482	33.4492448	33.3115393	30.8394718	25.3774603	31.1461139	25.5375675	18.8609308
ECT12	34.5346579	41.9859408	34.0254455	31.16272	24.7438138	28.8190517	24.2178862	19.8763218
ECT13	34.7158027	44.8928496	35.6600686	31.3802707	27.1510378	31.323105	27.3882077	21.1051343
ECT14	35.0734771	44.2381579	34.0510801	31.1567357	24.5426067	30.9717878	24.7823316	17.3954509
ECT15	34.4851467	32.1216503	30.6447505	27.865822	25.215408	30.8752026	23.4309625	17.0144003
ECT16	34.7020969	32.9697687	34.7990066	30.15567	25.1712452	31.3398612	25.1777003	19.0804276
ECT17	35.1468848	36.9793788	35.8890407	31.5622227	34.3231316	31.9412279	30.7317616	30.7139816
ECT18	34.9971154	45.4150606	35.2240361	32.0139691	31.1239317	31.7201993	30.265826	25.2511783
ECT19	34.5456879	45.0943763	33.7913124	31.1065719	24.2808646	30.1893351	23.6759569	17.680676
ECT20	43.4753035	35.9661591	32.144929	30.7126963	28.041094	29.8365656	23.9835619	18.0670007
ECT21	34.8848695	36.750927	35.0868452	31.2851197	27.6552563	31.5325395	29.0794955	25.0495386
ECT22	36.217278	38.7	34.8848275	33.4529256	29.7292453	30.8771668	26.2530825	22.0751851
ECT23	34.9734531	35.0118511	29.0380129	29.5045623	25.1289516	31.4126033	26.2039598	19.1035406
ECT24	34.5013227	44.9737244	34.4800962	31.6799327	27.0207391	31.2977354	26.1912204	20.3349957
CTRL1	34.5351047	45.5241418	33.6311792	31.6829861	28.9211577	31.880491	28.4507736	23.6340972
CTRL2	34.6320949	38.71	34.1669067	31.7838873	28.6482916	32.0960074	28.2516709	22.7703485
CTRL3	35.2811769	36.8853871	35.0898423	31.9730752	25.0359309	31.6686676	25.607375	18.519628
CTRL4	35.9460238	34.5538153	33.5619453	31.0469833	26.0157929	30.1431166	24.3051415	19.3179562
CTRL5	35.0799196	36.7418373	31.8885097	31.2913095	23.6205418	30.4977943	22.6511968	16.0440484
CTRL6	35.4091591	35.2825751	30.5967108	29.9553001	25.4327449	31.4959378	25.0827073	18.1008445
CTRL7	34.1685388	33.1549836	32.3322545	30.1233171	25.3159075	31.4585349	24.627615	18.3766688

CTRL8	34.6002335	43.8073323	34.2158845	31.4745356	26.2640094	31.8026265	26.217908	20.4389522
CTRL9	38.0654388	45.0261229	34.351335	33.2438533	26.3977643	31.4764088	25.465666	19.0710763
CTRL10	35.2339507	35.7429059	31.3481826	30.6520009	25.5028198	31.1227401	24.3198041	19.9958894
CTRL11	35.017887	35.732287	33.0539609	30.6873892	24.2358071	30.0813142	23.122633	17.2574999
CTRL12	34.7642622	39.0849879	34.6149349	32.2858174	26.5922288	30.6228312	25.6053611	19.8536125
CTRL13	34.4571156	42.3549833	32.8659285	32.131601	25.1433928	30.3771044	23.5912393	19.5252607
CTRL14	35.0345295	40.8086962	33.9909153	32.2530781	25.7013575	30.124924	24.9207728	18.852986
CTRL15	34.3112733	34.2756595	34.3147612	30.7494273	25.8160249	31.1020019	25.9742778	19.7940582
CTRL16	35.3214389	38.71	33.6060348	32.2400058	34.5992779	32.1143676	24.5388919	19.0157414
CTRL17	34.3394605	32.4777468	33.6042948	30.2795774	25.113102	31.1570799	24.5906726	18.756167
CTRL18	35.1491207	45.8983833	33.8957176	32.3425436	25.7275706	31.891544	24.7881552	18.787464
CTRL19	34.4716086	45.7224303	34.3759499	31.9374474	25.7812021	31.0140102	25.8658985	19.3494717
CTRL20	35.1985466	41.1747605	32.3349048	31.1280862	25.4067392	42.6840996	24.4058487	18.2437559
CTRL21	34.832832	40.1909625	33.7113923	31.9355684	25.2422134	31.0582205	25.2825182	19.8793458
CTRL22	34.1005879	33.816086	30.126588	29.7611942	24.1399949	30.122165	23.1132413	16.9603068
CTRL23	34.3213344	34.7661872	32.9501134	31.0501035	24.7356375	31.8559567	24.3808639	17.9145193

Anexo 2: $2^{-\Delta\Delta Ct}$ de los miRNA analizados

	$2^{-\Delta\Delta Ct}$						
	miR-208	miR-208b	miR-1	miR-133b	miR-21	miR-155	miR-126
ECT1	0.408654	0.5392633	0.1901686	0.6072832	1.216873	0.7379073	0.9721435
ECT2	0.1565406	0.1167029	0.3264606	0.2311087	0.703669	0.1801235	0.3346441
ECT3	1.137215	3.290941	0.5393212	1.263588	0.9588419	1.00909	0.3179363
ECT4	0.9559555	0.00812864	0.23016	0.5113041	1.034346	0.8677666	0.4331781
ECT5	0.3230362	3.35038	0.396256	0.6203404	0.977731	0.5433534	0.5394931
ECT6	1.095824	28.04	0.4736605	0.9272063	1.750753	1.119908	0.5513121
ECT7	0.5069925	0.1566239	0.2156329	0.3454935	1.023938	0.3273287	0.3558453
ECT8	1.464833	174.7449	18.20624	10.99835	0.6428555	1.095135	0.8915735
ECT9	0.2123469	0.5126268	0.2791929	0.3121215	0.9910885	0.3262908	0.4830317
ECT10	16.95023	8.895776	4.051837	22.95574	1.776935	17.77562	1.304123
ECT11	1.414566	35.32395	0.7811525	1.199752	1.313542	1.156655	0.566406
ECT12	2.233915	0.1922785	0.9627019	1.938418	4.119587	11.73228	2.85795

ECT13	4.617917	0.06008603	0.7266591	3.907217	1.820189	4.847263	0.7440501
ECT14	0.2754542	0.00722985	0.1694176	0.3486842	0.8484114	0.4726369	0.3461968
ECT15	0.3180144	24.6521	1.379298	2.620525	0.4086632	0.3880565	0.6782941
ECT16	1.145709	57.34309	0.3243685	2.243942	1.764396	1.177484	0.8463183
ECT17	7.45	28.04	3.73	7.31	9.854903	8.39	1.04
ECT18	67.27382	0.7407231	17.40496	44.58501	2.052295	65.16928	1.792406
ECT19	0.4839395	0.0048668	0.2471825	0.439941	1.239539	0.9906738	0.9083146
ECT20	0.00129719	3.559637	1.011402	0.7555411	0.1195676	1.653561	0.9592533
ECT21	63.23185	261.2886	16.64455	64.25321	1.66	64.54083	3.546972
ECT22	3.195004	28.04	2.436217	1.819494	0.5970533	12.93456	3.201277
ECT23	0.9645968	14.14851	17.87427	3.580736	1.846228	1.137667	0.4222372
ECT24	3.141783	0.03331141	0.9653903	1.861339	1.168169	2.892669	1.000222
CTRL1	30.20893	0.2238872	17.11516	1.02	3.080002	19.0108	2.05604
CTRL2	15.52116	9.55	6.487787	1.02	2.044926	8.997238	1.29704
CTRL3	0.51992	2.575995	0.1797508	0.4316191	1.313748	0.6355606	0.4259624
CTRL4	0.5703197	22.54959	0.9014351	1.426273	1.158417	3.182103	1.826852
CTRL5	0.1074725	0.5116041	0.2972654	0.1244827	0.6300326	0.2572772	0.5943549
CTRL6	0.3559128	5.852926	3.028112	1.30751	0.7464365	0.5359045	0.458401
CTRL7	1.018214	30.96516	1.100912	1.408959	0.9799317	0.6658527	0.7608051
CTRL8	3.15279	0.08035372	1.246042	2.306483	2.121279	2.190814	1.055253
CTRL9	0.1106095	0.01337648	0.4395277	0.2621566	0.7491382	1.064229	0.6887037
CTRL10	1.494693	15.82213	6.689931	3.000424	2.644622	2.581645	2.893128
CTRL11	0.2601694	2.388494	0.3073222	0.4387249	0.9537511	0.7962685	0.9940649
CTRL12	1.875481	1.413736	0.6297985	0.8760425	1.126132	3.307915	1.075343
CTRL13	1.848116	0.1167234	1.686014	0.7764353	2.448435	3.12379	3.459507
CTRL14	0.7772049	0.2139252	0.4851004	0.4478805	1.043637	2.334645	0.8637934
CTRL15	2.463476	38.03584	0.7441069	2.438356	1.850641	2.2771	0.7990322
CTRL16	0.7131181	9.55	0.7090657	0.5059313	0.00244908	0.6581621	1.259974
CTRL17	1.176594	64.41429	0.5930218	1.644749	1.467191	1.067494	1.015394
CTRL18	0.6859872	0.00600329	0.4951821	0.4022594	0.9793423	0.6556787	0.9049147
CTRL19	1.619753	0.01001239	0.524061	0.786382	1.393064	1.778428	0.6329302
CTRL20	0.4547418	0.1088101	1.002176	0.6403566	0.8391545	0.00025359	0.8091348
CTRL21	1.820613	0.6686263	1.199338	1.13686	2.92234	2.490208	1.369237
CTRL22	0.3998773	7.336589	1.902641	0.6784858	0.8294941	0.6299385	0.8142876
CTRL23	0.6648475	7.357527	0.5207601	0.5380058	1.06354	0.3669623	0.6552877

Anexo 3: Consentimiento informado del protocolo OVERTIME

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPANTES DE INVESTIGACIÓN

Estudio: “Ensayo clínico aleatorizado de terapia antiplaquetaria dual vs monoterapia + anticoagulación en pacientes con síndrome coronario agudo y ectasia coronaria.”

Investigadores principales: Dr. Diego Araiza Garaygordobil
Médico adscrito al servicio de Urgencias y Unidad Coronaria
Dra. María Alexandra Arias Mendoza
Jefa del servicio de Urgencias y Unidad Coronaria

Juan Badiano 1, Belisario Domínguez Secc. 16, Tlalpan, 14080 Ciudad de México, México
Número de teléfono: 5555732911, extensión 24209 y 24208

El propósito de esta ficha de consentimiento informado es proveer a los participantes en esta investigación con una clara explicación de la naturaleza de la misma, así como de su rol en ella como participantes. La presente investigación es conducida por el grupo de investigación de la Unidad Coronaria del Instituto Nacional de Cardiología. La meta de este estudio es ampliar el conocimiento sobre el papel de dos regímenes de tratamiento antitrombótico en pacientes con ectasia coronaria después de un infarto.

Le invitamos a participar en nuestro proyecto de investigación médica. Es importante mencionar que la participación en este estudio es totalmente voluntaria y en caso de decidir no participar o retirarse del mismo en cualquier momento, no se afectará en la calidad de su atención ni le generará un costo adicional durante su estancia hospitalaria en el Instituto Nacional de Cardiología.

Le pedimos muy atentamente que antes de decidir participar o no en este proyecto lea esta carta de consentimiento informado que se presenta a continuación y haga cualquier pregunta o duda que le pueda surgir durante la lectura de la misma. Una vez comprendido el objetivo del estudio y en caso de decidir participar, tendrá que firmar, con nombre y fecha, esta carta de consentimiento informado.

Justificación del estudio

La ectasia coronaria (dilatación de las arterias coronarias) constituye un problema frecuente en los pacientes con infarto en México, como ha sido demostrado en trabajos previos. Al momento actual, no existen estudios que permitan establecer una recomendación de tratamiento óptimo posterior a un infarto en pacientes con ectasia coronaria. Datos del Instituto Nacional de Cardiología sugieren que la ectasia es más frecuente en población mexicana (10.3%), por lo que resulta de especial interés estudiar las mejores opciones de tratamiento.

Objetivo del estudio

El objetivo del estudio será evaluar dos esquemas de tratamiento, la combinación de medicamentos antiplaquetarios o la combinación de antiplaquetarios con anticoagulantes. Se evaluará la posibilidad de desarrollar un problema cardiovascular durante un año en función del tipo de tratamiento que usted reciba. Igualmente se evaluarán si existen complicaciones de tipo sangrado.

Beneficios del estudio

Identificaremos parámetros que pueden orientar a los doctores en cómo atenderle mejor a usted. La información que se obtenga podría, además, beneficiar a otros pacientes con condiciones similares a usted.

Procedimiento del estudio

1. Los pacientes serán reclutados en el servicio de urgencias y unidad coronaria del Instituto Nacional de Cardiología.
2. Una vez que se haya verificado que cumplan todos los criterios de inclusión y exclusión, serán asignados al azar a uno u otro tratamiento.
3. Los médicos parte del estudio estarán al pendiente de su evolución dentro del instituto.

4. El tratamiento se continuará por un lapso de 12 meses. Se planearán 3 visitas a 30 días tras el alta hospitalaria, 6 meses después del alta hospitalaria y 12 meses después del alta hospitalaria.
5. En cada visita se registrarán datos clínicos básicos y se indagará los eventos clínicos, incluyendo evidencia objetiva documental de los eventos de interés.

Riesgos y molestias

Los riesgos asociados a los procedimientos del estudio son mínimos e incluyen disconfort al momento de obtener una muestra de sangre.

Aclaraciones

1. Su decisión de participar es estrictamente voluntaria.
2. No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted en caso de no aceptar la invitación.
3. Si desea participar en el estudio, podrá retirarse en el momento que lo desee, discutiendo o no las razones de su retiro.
4. No tendrá que hacer gasto adicional alguno durante el estudio / así mismo, tampoco recibirá un pago por su participación.
5. En el transcurso del estudio, usted podrá solicitar la información sobre sus resultados al médico investigador. Igualmente, se le aclarará cualquier pregunta que usted tenga sobre su participación.
6. Los resultados de este estudio contribuyen a ampliar el conocimiento sobre infarto agudo al miocardio e insuficiencia cardiaca y podrían en un futuro cercano, ser de utilidad para usted y para otros enfermos con el mismo diagnóstico.
7. Sus datos serán **ESTRICTAMENTE** confidenciales.

Firma del consentimiento

He leído y entendido la información anterior sobre el estudio. He podido hacer preguntas, mismas que me han sido contestadas a mi satisfacción. Comprendo que mi participación es voluntaria, y que puedo negarme a participar o abandonar el estudio en cualquier momento, sin perjuicio para mí o para mis derechos de atención sanitaria. Acepto libremente participar en el estudio.

Investigador responsable: Dr. Diego Araiza Garaygordobil

Fecha:

Firma _____

Nombre del paciente

Firma _____ **Domicilio**

Nombre testigo 1

Firma _____ **Domicilio**

Nombre testigo 2

Firma _____ **Domicilio**

Referencias

1. Bergmark B, Mathenge N, Merlini P, Lawrence-Wright M, Giugliano R. *Acute coronary syndromes*. The Lancet. 2022;399(10332):1347-1358.
2. Libby P, Pasterkamp G, Crea F, Jang I. *Reassessing the Mechanisms of Acute Coronary Syndromes*. Circulation Research. 2019;124(1):150-160.
3. Kawsara A, Núñez Gil I, Alqahtani F, Moreland J, Rihal C, Alkhouli M. *Management of Coronary Artery Aneurysms*. JACC: Cardiovascular Interventions. 2018;11(13):1211-1223.
4. Packard M. *Aneurysm of the coronary arteries*. Archives of Internal Medicine. 1929;43(1):1.
5. Díaz-Zamudio M, Bacilio-Pérez U, Herrera-Zarza M, Meave-González A, Alexanderson-Rosas E, Zambrana-Balta G et al. *Coronary Artery Aneurysms and Ectasia: Role of Coronary CT Angiography*. RadioGraphics. 2009;29(7):1939-1954.
6. Markis J, Joffe C, Cohn P, Feen D, Herman M, Gorlin R. *Clinical significance of coronary arterial ectasia*. The American Journal of Cardiology. 1976;37(2):217-222.
7. Syed M, Lesch M. *Coronary artery aneurysm: A review*. Progress in Cardiovascular Diseases. 1997;40(1):77-84.
8. Abou Sherif S, Ozden Tok O, Taşköylü Ö, Goktekin O, Kilic I. *Coronary Artery Aneurysms: A Review of the Epidemiology, Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment*. Frontiers in Cardiovascular Medicine. 2017;4.
9. McCrindle B, Rowley A, Newburger J, Burns J, Bolger A, Gewitz M et al. *Diagnosis, Treatment, and Long-Term Management of Kawasaki Disease: A Scientific Statement for Health Professionals From the American Heart Association*. Circulation. 2017;135(17).
10. Joo H, Woong Yu C, Choi R, Park J, Lee H, Kim J et al. *Clinical outcomes of patients with coronary artery aneurysm after the first generation drug-eluting*

- stent implantation. Catheterization and Cardiovascular Interventions.* 2017;92(3):E235-E245.
11. Ovalı C, Morrad B. *Associations between coronary artery disease, aneurysm and ectasia.* Polish Journal of Cardio-Thoracic Surgery. 2017;3:158-163.
 12. Demopoulos V, Olympios C, Fakiolas C, Pissimissis E, Economides N, Adamopoulou E et al. *The natural history of aneurysmal coronary artery disease.* Heart. 1997;78(2):136-141.
 13. Rath S, Har-Zahav Y, Battler A, Agranat O, Rotstein Z, Rabinowitz B et al. *Fate of nonobstructive aneurysmatic coronary artery disease: Angiographic and clinical follow-up report.* American Heart Journal. 1985;109(4):785-791.
 14. Manginas A, Cokkinos D. *Coronary artery ectasias: imaging, functional assessment and clinical implications.* European Heart Journal. 2006;27(9):1026-1031.
 15. Davies M, Thomas A. *Plaque fissuring--the cause of acute myocardial infarction, sudden ischaemic death, and crescendo angina.* Heart. 1985;53(4):363-373.
 16. Lin K, Hsu P, Chen B, Yuan S, Usami S, Shyy J et al. *Molecular mechanism of endothelial growth arrest by laminar shear stress.* Proceedings of the National Academy of Sciences. 2000;97(17):9385-9389.
 17. Alipov V, Sukhorukov V, Karagodin V, Grechko A, Orekhov A. *Chemical composition of circulating native and desialylated low density lipoprotein: what is the difference?.* Vessel Plus. 2017;.
 18. Hansson G, Robertson A, Söderberg-Nauclér C. *INFLAMMATION AND ATHEROSCLEROSIS.* Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease. 2006;1(1):297-329.
 19. Cerne A, Kranjec I. *Atherosclerotic burden in coronary and peripheral arteries in patients with first clinical manifestation of coronary artery disease.* Heart and Vessels. 2002;16(6):217-226.
 20. Eikendal A, Groenewegen K, Bots M, Peters S, Uiterwaal C, den Ruijter H. *Relation Between Adolescent Cardiovascular Risk Factors and Carotid Intima-Media Echogenicity in Healthy Young Adults: The Atherosclerosis Risk in Young Adults (ARYA) Study.* Journal of the American Heart Association. 2016;5(5).

21. Tzou W, Douglas P, Srinivasan S. *Increased Subclinical Atherosclerosis in Young Adults With Metabolic Syndrome. The Bogalusa Heart Study.* ACC Current Journal Review. 2005;14(11):18.
22. Churov A, Summerhill V, Grechko A, Orekhova V, Orekhov A. *MicroRNAs as Potential Biomarkers in Atherosclerosis.* International Journal of Molecular Sciences. 2019;20(22):5547.
23. Wojciechowska A, Osiak A, Kozar-Kamińska K. *MicroRNA in cardiovascular biology and disease.* Advances in Clinical and Experimental Medicine. 2017;26(5):868-874.
24. Eulalio A, Huntzinger E, Izaurralde E. *Getting to the Root of miRNA-Mediated Gene Silencing.* Cell. 2008;132(1):9-14.
25. Bushati N, Cohen S. *microRNA Functions.* Annual Review of Cell and Developmental Biology. 2007;23(1):175-205.
26. Ying S, Lin S. *Current perspectives in intronic micro RNAs (miRNAs).* Journal of Biomedical Science. 2005;13(1):5-15.
27. Lim L, Lau N, Garrett-Engle P, Grimson A, Schelter J, Castle J et al. *Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs.* Nature. 2005;433(7027):769-773.
28. Fazmin I, Achercouk Z, Edling C, Said A, Jeevaratnam K. *Circulating microRNA as a Biomarker for Coronary Artery Disease.* Biomolecules. 2020;10(10):1354.
29. Bronze-da-Rocha E. *MicroRNAs Expression Profiles in Cardiovascular Diseases.* BioMed Research International. 2014;2014:1-23.
30. Ambros V. *The functions of animal microRNAs.* Nature. 2004;431(7006):350-355.
31. Santovito D, Mezzetti A, Cipollone F. *MicroRNAs and atherosclerosis: New actors for an old movie.* Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases. 2012;22(11):937-943.
32. Zhou S, Jin J, Wang J, Zhang Z, Freedman J, Zheng Y et al. *miRNAs in cardiovascular diseases: potential biomarkers, therapeutic targets and challenges.* Acta Pharmacologica Sinica. 2018;39(7):1073-1084.

33. Widera C, Gupta SK, Lorenzen JM, Bang C, Bauersachs J, Bethmann K, et al. *Diagnostic and prognostic impact of six circulating microRNAs in acute coronary syndrome*. J Mol Cell Cardiol 2011; 51: 872–5.
34. Eitel I, Adams V, Dieterich P, et al. *Relation of circulating microRNA-133a concentrations with myocardial damage and clinical prognosis in ST-elevation myocardial infarction*. Am Heart J. 2012;164:706–714.
35. Fichtlscherer S, De Rosa S, Fox H, et al. *Circulating microRNAs in patients with coronary artery disease*. Circ Res. 2010;107:677–684.
36. De Gonzalo-Calvo D, Iglesias-Gutiérrez E, Llorente-Cortés V. *Epigenetic Biomarkers and Cardiovascular Disease: Circulating MicroRNAs*. Revista Española de Cardiología (English Edition). 2017;70(9):763-769.
37. Cipollone, F.; Felicioni, L.; Sarzani, R.; Uchino, S.; Spigonardo, F.; Mandolini, C.; Malatesta, S.; Bucci, M.; Mammarella, C.; Santovito, D.; et al. *A Unique MicroRNA Signature Associated with Plaque Instability in Humans*. Stroke 2011, 42, 2556–2563.
38. Grabmaier U, Clauss S, Gross L, Klier I, Franz WM, Steinbeck G, et al. *Diagnostic and prognostic value of mir-1 and mir-29b on adverse ventricular remodeling after acute myocardial infarction—the sitagrami-mir analysis*. Int J Cardiol 2017; 244: 30–36.
39. Lv P, Zhou M, He J, Meng W, Ma X, Dong S, et al. *Circulating mir-208b and mir-34a are associated with left ventricular remodeling after acute myocardial infarction*. Int J Mol Sci 2014; 15: 5774–88.
40. Liu X, Dong Y, Chen S, Zhang G, Zhang M, Gong Y, et al. *Circulating microRNA-146a and microRNA-21 predict left ventricular remodeling after ST-elevation myocardial infarction*. Cardiology 2015; 132: 233–41.
41. Hutcheson, R.; Chaplin, J.; Hutcheson, B.; Borthwick, F.; Proctor, S.; Gebb, S.; Jadhav, R.; Smith, E.; Russell, J.C.; Rocic, P. *miR-21 normalizes vascular smooth muscle proliferation and improves coronary collateral growth in metabolic syndrome*. FASEB J. 2014, 28, 4088–4099.

42. Yang, Y.; Yang, L.; Liang, X.; Zhu, G. *MicroRNA-155 Promotes Atherosclerosis Inflammation via Targeting SOCS1*. *Cell. Physiol. Biochem.* 2015, 36, 1371–1381.
43. Zhu GF, Yang LX, Guo RW, et al. *MicroRNA-155 is inversely associated with severity of coronary stenotic lesions calculated by the Gensini score*. *Coron Artery Dis.* 2014;25:304–310.
44. Zernecke, A.; Bidzhekov, K.; Noels, H.; Shagdarsuren, E.; Gan, L.; Denecke, B.; Hristov, M.; Köppel, T.; Jahantigh, M.N.; Lutgens, E.; et al. *Delivery of MicroRNA-126 by Apoptotic Bodies Induces CXCL12-Dependent Vascular Protection*. *Sci. Signal.* 2009, 2, ra81.
45. Wang X, Zhang X, Yuan J, Wu J, Deng X, Peng J et al. *Evaluation of the performance of serum miRNAs as normalizers in microRNA studies focused on cardiovascular disease*. *Journal of Thoracic Disease.* 2018;10(5):2599-2607.
46. Livak K, Schmittgen T. *Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta CT$ Method*. *Methods.* 2001;25(4):402-408.
47. Lindholm E, Ragle Aure M, Haugen M, Kleivi Sahlberg K, Kristensen V, Nebdal D et al. *miRNA expression changes during the course of neoadjuvant bevacizumab and chemotherapy treatment in breast cancer*. *Molecular Oncology.* 2019;13(10):2278-2296.
48. Weber M, Baker M, Patel R, Quyyumi A, Bao G, Searles C. *MicroRNA Expression Profile in CAD Patients and the Impact of ACEI/ARB*. *Cardiology Research and Practice.* 2011;2011:1-5.
49. Sardu C, Santamaria M, Paolisso G, Marfella R. *microRNA expression changes after atrial fibrillation catheter ablation*. *Pharmacogenomics.* 2015;16(16):1863-1877.